

ESTUDIO Y PREPARACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE TOMA, TRATAMIENTO Y ANÁLISIS PARA AGUAS DE POZO SITUADOS EN ZONAS CONTAMINADAS DEL ÁFICA SUBSAHARIANA (SENEGAL)

STUDY AND PREPARATION OF A TREATMENT AND ANALYSIS
OF WELL WATERS PROCEDURE FOR LOCATED
CONTAMINATED AREAS OF SUB-SAHARAN AFRICA (SENEGAL)

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA
TRABAJO DE FIN DE GRADO

ANTONIO MARTÍNEZ HERBER

DIRECTORES: DR. JESÚS VELA Y DR. SALVADOR NEVOT

FACULTAD DE CIENCIAS
Convocatoria Julio de 2020

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Codesarrollo, gobernanza y empoderamiento mediante SIG y Cartografía para las comunidades locales en Kédougou (Senegal).....	5
1.2. Algunas ideas acerca del agua.....	6
1.3. Parámetros físico-químicos básicos, sustancias no deseables y sustancias tóxicas susceptibles de ser analizadas en base al entorno donde se encuentran los pozos de captación.....	8
1.4. Técnicas y métodos de análisis de aguas. Análisis clásico, análisis instrumental. Calibración con patrones externos.....	14
2. OBJETIVOS.....	18
3. PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS Y TOMA Y TRATAMIENTO DE MUESTRA.....	18
3.1. Toma y tratamiento de la muestra de agua.....	18
3.2. Parámetros físico-químicos básicos.....	20
• Temperatura	
• Medida del pH del agua utilizando un electrodo de vidrio	
• Medida de la conductividad del agua	
• Procedimiento para la determinación de cloruros por el método de Mohr	
• Procedimiento para la determinación de sulfatos por gravimetría	
• Procedimiento para la determinación de iones carbonato e hidrogenocarbonato por volumetría ácido-base	
• Procedimiento para la determinación de calcio, magnesio y dureza total por complexometría	
• Procedimiento para la determinación de sodio y potasio por espectroscopía de emisión atómica	
3.3. Sustancias no deseables.....	23
• Procedimiento para la determinación de iones nitrato, nitrito y hierro por espectroscopia de absorción molecular	
• Procedimiento para la determinación de iones amonio y fluoruros por potenciometría	
• Procedimiento para la determinación de cobre y zinc por espectroscopia de absorción atómica	
3.4. Sustancias tóxicas.....	26
• Procedimiento para la determinación de cadmio, plomo y níquel por espectroscopia de absorción atómica	
• Procedimiento para la determinación de cromo por espectroscopia de absorción molecular	
• Procedimiento para la determinación de fenoles por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	
• Procedimiento para la determinación de hidrocarburos policíclicos aromáticos básicos (BTX; Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno) por cromatografía de gases	
4. CONCLUSIONES.....	28
5. BIBLIOGRAFÍA.....	28
6. ANEXOS.....	30
ANEXO I. “Kits” comerciales susceptibles de ser utilizados en análisis rápidos “in situ” y su posible validación con métodos de laboratorio	
ANEXO II. Estudio estadístico y presentación de resultados	

ABSTRACT

In recent years, there has been a growing need, both sanitary and economic, to carry out studies on water quality and to set up supply systems in underdeveloped countries, such as Senegal, a sub-Saharan African country, as it has been proven that this is directly related to the health of human beings.

This paper has attempted to design an experimental analysis plan focusing on the environmental setting of the proposed water sampling sites, as it is believed that there is sufficient evidence to state that this affects them. Furthermore, an attempt has been made to explain the basic principles and foundations for acquiring the necessary knowledge about the main analysis techniques, both classical and instrumental, which are going to be applied in order to quantify the chosen species in question.

The species and compounds will be classified according to whether they are harmless to health, whether they are undesirable for health, or whether they are toxic substances and therefore harmful or even potentially fatal. There is a great diversity of ways to decide how to carry out the study of species. An experimental plan has been proposed that covers all the main techniques with their corresponding analysis protocols, which in many cases will have to be corrected in terms of dilution or concentration of the standard solutions or samples. It will be crucial to optimize and regulate the analysis conditions in order to make a successful determination. For the quantification, in some cases the weighing and reaction stoichiometry will be used directly, while in other cases it will be mandatory to perform the subsequent calibration curve either by external standard or by standard addition.

As this is a developing country, there is a lack of official data governed by internal legislation to establish comparisons around the quantification of the species that appear in the work, so we insist that they will be referenced both with the orders of the WHO and the European and Spanish legislation that is within our reach, mainly Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption and Royal Decree 140/2003 of 7 February 2003 laying down health criteria for the quality of water intended for human consumption.

Carrying out this work, therefore, is a first step towards improving the potability of water in order to reduce pollutants or to have them controlled, or at least, it is an advance in terms of the study of supply waters so that later it will be easier to develop a protocol in which to set emphasis on possible pollution problems in order to solve them, as well as to indicate in what conditions the water is in each location of the different samples.

RESUMEN

En estos últimos años ha crecido la necesidad tanto sanitaria como económica de realizar estudios acerca de la calidad del agua y de implantar sistemas de abastecimiento en países subdesarrollados, como es Senegal, un país del África Subsahariana, pues se ha comprobado que está directamente relacionado con la salubridad de los seres humanos.

En el presente trabajo se ha intentado diseñar un plan de análisis experimental centrándose en el entorno medioambiental de los sitios propuestos para la recogida de muestras de agua, pues se cree que hay indicios suficientes para afirmar que éste afecta. Además, se ha intentado explicar los fundamentos y principios básicos para adquirir un conocimiento necesario sobre las

principales técnicas de análisis, clásicas e instrumentales, las cuales van a ser aplicadas para poder cuantificar las especies elegidas en cuestión.

Las especies y compuestos van a ser clasificados en función de si son inocuos para la salud, si son no deseables para ésta o si son sustancias tóxicas y por lo tanto, son perjudiciales incluso pudiendo a llegar a causar la muerte. Hay una gran diversidad de maneras para decidir cómo llevar a cabo el estudio de las especies. Se ha propuesto un plan experimental que abarca todas las principales técnicas con sus protocolos de análisis correspondientes, que en muchos casos, deberán de ser corregidos en cuánto a dilución o concentración de las disoluciones patrón o de las muestras. Será crucial optimizar y regular las condiciones de análisis para realizar una exitosa determinación. Para la cuantificación en unos casos se utilizará directamente la pesada y la estequiometría de la reacción, así como en otros será obligatorio realizar la consiguiente curva de calibración bien por patrón externo o por adición estándar.

Al tratarse de un país en vías de desarrollo, se carecen de datos oficiales regidos por una legislación interna para establecer comparaciones en torno a la cuantificación de las especies que aparecen en el trabajo, por lo que se insiste, en que van a estar referenciadas tanto con las órdenes de la OMS como la legislación europea y española que está en nuestro alcance, principalmente la Directiva 98/83/CE del Consejo de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano y el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.

La realización de este trabajo, supone por tanto, un primer paso hacia la mejora de la potabilidad del agua para reducir contaminantes o tenerlos controlados, o por lo menos, supone un avance en cuanto al estudio de las aguas de abastecimiento para que posteriormente sea más fácil desarrollar un protocolo en el que fijar énfasis en los posibles problemas de contaminación para solucionarlos, además de señalar en qué condiciones se encuentra el agua en cada localización de las distintas muestras.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Codesarrollo, gobernanza y empoderamiento mediante SIG y Cartografía para las comunidades locales en Kédougou (Senegal)

Con el Plan Director de la Cooperación Aragonesa para el Desarrollo 2016-2019 al fondo y en el marco de la colaboración entre el Gobierno de Aragón y la Universidad de Zaragoza para la promoción de la cooperación con los países africanos, el grupo de Estudios en Ordenación del Territorio (GEOT) de la Universidad de Zaragoza solicitó financiación para desarrollar un proyecto cuyo objetivo era implementar acciones dirigidas a la formación, fortalecimiento asociativo y capacitación de las organizaciones en Kédougou. En la resolución de 18 de junio de 2019 de las Ayudas para Proyectos e iniciativas de Cooperación al Desarrollo en el ámbito universitario del Vicerrectorado de Internacionalización y Cooperación, GEOT obtuvo presupuesto para la ampliación del proyecto “Formación en herramientas para la gobernanza y la gestión territorial. Uso de la cartografía y los SIG con modelos de codesarrollo para técnicos y ONGs en Senegal”. Este nuevo proyecto de cooperación nace de los ya desarrollados en Kaolack y Kédougou durante los últimos años.

La elección de la zona de Kédougou respondía al interés de potenciar el desarrollo, la formación y el conocimiento innovador en una de las zonas con peores indicadores sociales del país, con problemas reales de accesibilidad, importantes carencias en servicios básicos como la provisión y calidad del agua para consumo humano, y escasas ayudas externas e, incluso del Gobierno senegalés. Además de servir a la población local ayudaría en el trabajo y desarrollo de las administraciones senegalesas. De hecho el proyecto tenía en consideración las indicaciones de la Oficina Técnica de Cooperación en Senegal que priorizaba la puesta en marcha de propuestas innovadoras y la validación de nuevos modelos de desarrollo rural susceptibles de réplica en el país para promover las oportunidades económicas de los más pobres.

Uno de los objetivos más aplicados y referentes para este proyecto era (y es) los temas hidrológicos, del ciclo del agua y acceso a la misma. Es en ese marco donde se produce el contacto entre el GEOT (prof.Nevot) y el Departamento de Química Analítica (prof.Vela) para estudiar la posibilidad de estudiar la calidad de las aguas en virtud del análisis de una serie de parámetros químicos que bien podrían ser llevados a cabo por estudiantes del grado de químicas realizando su trabajo fin de grado.

El presente proyecto fin de grado, se integra dentro de las metas definidas en el *ODS 6, Agua Limpia y Saneamiento*, uno de los principales objetivos del nuevo proyecto de cooperación liderado por la UZ para los próximos años, donde se pretende garantizar la disponibilidad de agua de calidad y su gestión sostenible, así como un saneamiento óptimo para todos los miembros de las diferentes comunidades que conforman la región de Kédougou. El agua libre de impurezas y accesible es parte esencial para el desarrollo y crecimiento de las personas y las regiones.

Senegal, ha adquirido un fuerte compromiso con el derecho humano al agua y el cumplimiento de las metas establecidas en el ODS 6 de lograr el acceso universal y equitativo al agua potable, para lo cual el proyecto de cooperación de la UZ, junto con los que está desarrollando la CE, pretende contribuir a las siguientes metas:

- Meta 6.1. Lograr el acceso universal y equitativo al agua potable.
- Meta 6.2. Lograr el acceso equitativo a servicios básicos de saneamiento e higiene.
- Meta 6.3. Mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación.

Por último, se impulsará la gobernanza de los usuarios a través del fortalecimiento y educación de los habitantes de los poblados, que deberán velar por el respeto de las obligaciones en lo que respecta a la calidad del agua potable.

1.2. Algunas ideas acerca del agua

El agua es una sustancia que se formula químicamente como H_2O , esto es, dos átomos de hidrógeno enlazados covalentemente a un átomo de oxígeno. Entre las propiedades fisicoquímicas del agua destacan su gran capacidad disolvente, sus elevados calor específico y calor de vaporización, su gran cohesión y adhesión, su densidad anómala y su capacidad de ejercer como reactivo químico. En función de la temperatura y la presión, el agua se puede encontrar en estado sólido, líquido, gaseoso o supercrítico, de acuerdo al diagrama mostrado en la figura 1.



Figura 1. Diagrama de las distintas fases del agua (Licencia <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5662834>)

El agua es un compuesto bastante común en el Sistema Solar y en el universo donde se encuentra principalmente en forma de hielo y de vapor. Es esencial e imprescindible para el origen y la supervivencia de la gran mayoría de todas las formas conocidas de vida. La existencia de agua en estado líquido es necesaria para los seres vivos terrestres y su presencia es un factor importante en el origen y la evolución de la vida en el planeta Tierra. Son principalmente el tamaño y la situación del planeta dentro del Sistema Solar, los que permiten la existencia de esa agua líquida. El agua constituye aproximadamente el 70% de la superficie del planeta, si bien el volumen total ocupado por el agua es pequeño (no llega a los $1.400.000.000 \text{ km}^3$) comparado con el del planeta...Y la mayor parte de esta agua es agua salada. El ciclo hidrológico incluye el proceso de circulación del agua entre las distintas zonas que constituyen la hidrósfera y posibilita la disponibilidad de agua dulce para uso y consumo de la especie humana.

El agua desempeña un papel biológico fundamental y todas las formas de vida de las que se tiene constancia dependen de ella a nivel molecular. Sus capacidades de disolución posibilitan las diversas reacciones químicas de los compuestos orgánicos cruciales para todas las funciones vitales, el transporte de moléculas a través de las membranas y la disolución de los productos de excreción. Es asimismo, un precursor indispensable en procesos metabólicos y enzimáticos (por su carácter anfótero). Los fenómenos fotosintéticos de generación de glucosa necesitan de ella para llevarse a cabo con éxito.

A la vista de lo comentado, parece obvia la importancia de consumir un agua de calidad libre de contaminantes químicos y biológicos para el adecuado desarrollo de los seres humanos. En la actualidad, en los países desarrollados no se perciben problemas estructurales por temas de contaminación de aguas. Los procesos de filtración y desinfección del agua en los sistemas de abastecimiento de agua están lo suficientemente desarrollados y optimizados como para asegurar la potabilidad del agua para la mayor parte de su población. Otra cosa es la calidad del agua de uso y

consumo humano en países con un nivel bajo o muy bajo de desarrollo. En ellos, no es raro la carencia de sistemas de abastecimiento de aguas y sí habitual la utilización de aguas subterráneas para uso y consumo humano directo. Pozos de abastecimiento que pueden estar más o menos alejados de sistemas de saneamiento tecnológicamente poco desarrollados, normalmente fosas sépticas no impermeabilizadas que pueden (y suelen) constituir un foco de contaminación de aguas subterráneas muy importante.

Para este último contexto, se ha definido lo que es el “agua segura”, un agua que no contiene bacterias peligrosas, metales tóxicos, o productos químicos tóxicos para la salud (o los contienen pero en concentraciones por debajo del umbral de toxicidad), y es por lo tanto considerada segura para beber, aunque no reúna las condiciones ideales para su consumo.

La introducción en este punto de las definiciones, entre otras muchas, de “agua potable” y “agua segura” llevó al desarrollo de una legislación en materia de aguas muy importante en países desarrollados pero, desgraciadamente, no tanto en países con niveles de desarrollo bajo o muy bajo, como es el caso que se está estudiando. A continuación, se esbozará muy brevemente la legislación europea y española en materia de aguas, superficiales y subterráneas. La aplicación de esa legislación en toda su extensión a la calidad del agua de uso y consumo en aldeas senegalesas es, a día de hoy, impensable y poco realista. Sí que se tomarán de esta legislación algunos de los parámetros físico-químicos que hacen de un agua “segura” y se prepararán los correspondientes procedimientos de análisis.

A día de hoy, la legislación que rige la calidad de las aguas de consumo humano en España se basa en la Directiva 98/83/CE del Consejo de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano¹. Esta Directiva, se transpuso al derecho interno español en el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano (texto consolidado con última modificación del 1 de agosto de 2018)². Señalar que, a partir de ese RD 140/2003 de 7 de febrero, se ha desarrollado un conjunto de Reales Decretos, Resoluciones y Órdenes ministeriales para situaciones específicas o que necesitaban ser aclaradas y/o desarrolladas.

Dado que las muestras objeto de este trabajo van a proceder de aguas subterráneas, conviene citar la Directiva 80/68/CEE, del Consejo, de 17 de diciembre de 1979, relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas, la cual fue incorporada al ordenamiento jurídico español a través del Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprobó el Reglamento del Dominio Público Hidráulico³. Con posterioridad a la adopción de dicha directiva, la Unión Europea reiteró la necesidad de disponer de nuevas y más estrictas medidas de protección del estado cuantitativo y químico de las aguas subterráneas. En este sentido, la Directiva 2000/60/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas, dispone, en su artículo 17, que el Parlamento Europeo y el Consejo, previa propuesta de la Comisión, se adopten medidas específicas para prevenir y controlar la contaminación de las aguas subterráneas. La incorporación al ordenamiento interno de la citada Directiva se llevó a cabo a través del Real Decreto 1514/2009, de 2 de octubre, que tiene como principales objetivos prevenir o limitar la contaminación de las aguas subterráneas y establecer los criterios y los procedimientos para evaluar su estado químico⁴. Igualmente, se incorporaron los apartados 2.3, 2.4 y 2.5 del Anexo V de la Directiva 2000/60/CE, relativos al estado químico de las aguas subterráneas. Así, por ejemplo, en el Anexo I del RD 1514/2009 se fija, entre otros, el valor paramétrico de los

nitratos (50 mg/L); en el Anexo III se citan los parámetros esenciales a controlar en masas de aguas subterráneas (oxígeno disuelto, pH, conductividad, nitrato y el ion amonio).

Para cerrar este apartado, señalar que la legislación española contempla cuatro calificaciones del agua: agua apta para el consumo, agua apta para el consumo con excepción para algún parámetro (no corre riesgo la salubridad), agua apta para el consumo con exceso de algún parámetro de la parte C del Anexo I (tampoco hay riesgo para el ser humano) y agua no apta para consumo. Evidentemente, muy alejado del contexto senegalés.

1.3. Parámetros físico-químicos básicos, sustancias no deseables y sustancias tóxicas susceptibles de ser analizadas en base al entorno donde se encuentran los pozos de captación

La consideración legal sobre la potabilidad de un agua se apoya o se basa en fijar una serie de compuestos o sustancias y asociarlas con unos contenidos aceptables. Actualmente el concepto legal que regula la calidad de las aguas destinadas al consumo humano en España se basa en la Directiva 98/83/CE del Consejo de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano¹. En general las normativas entienden como agua potable aquella que cumple una serie de caracteres organolépticos, físico-químicos, relativos a sustancias no deseables, a sustancias tóxicas, microbiológicas y de radiactividad, estableciéndose unos valores máximos admisibles para una serie de parámetros. Estos valores máximos corresponden a la mínima calidad admisible en el agua potable.

Este trabajo se restringirá al estudio de determinados parámetros físico-químicos, los relativos a sustancias no deseables y a las sustancias tóxicas. Los aquí presentados no son todos lo que podrían ser, sino los que se han considerado más representativos y probables de acuerdo al entorno geográfico detallado en el apartado 1.1, todo ello intentando ceñirse a las directrices de los Trabajo Fin de Grado de la titulación de Químicas en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza.

1.3.1 Parámetros físico-químicos básicos

Desde la óptica de la química, concretamente de la química-física, la **temperatura** es un concepto clave en procesos termodinámicos y que se define como una medida de la energía cinética promedio de los átomos o moléculas en el sistema.

Este parámetro tiene gran relevancia en cuanto a los sucesos que ocurren en el seno del agua en los que se puede destacar la solubilidad del oxígeno y la del dióxido de carbono, la de las distintas sales minerales, así como las reacciones de tipo biológicas con microorganismos. Según distintos estudios se puede afirmar que la temperatura de las aguas subterráneas va a verse influenciada por el entorno y la profundidad.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), no se establece ningún criterio exacto para determinar un valor de temperatura para el agua de consumo, pero si incide en que hay que evitar que el agua esté en un rango de temperaturas de 25-50°C porque es cuando la mayoría de las bacterias y microorganismos proliferan. Además, al aumentar la temperatura se modifican propiedades organolépticas como el sabor, el color, el olor y se favorecen los procesos de corrosión de materiales.

La **conductividad eléctrica** del agua da idea de la presencia de iones disueltos en ella. Un mayor número de ellos en disolución resulta en un mayor valor de conductividad. Si bien no se puede generalizar, se asume que la presencia de iones en altas concentraciones en agua resulta en una pérdida en la calidad de ésta. Por referenciar un valor de conductividad, señalar que el RD 140/2003 de 7 de febrero, formaliza un valor de 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C. Para ejemplificar con un dato

real, según el Informe Técnico de calidad del agua de consumo humano en España en 2018⁵, la media de la conductividad en España se sitúa en 458,13 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C. En el citado informe se describen distintos intervalos de conductividad al objeto de “calificar” la calidad de las aguas, siendo un valor óptimo entorno a los 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a unos 25°C y un agua dudosa entre 2000-3000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C siendo a partir de 3000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no apta para el consumo.

El **pH** es otro de los parámetros físico-químicos básicos en la caracterización de agua. Matemáticamente expresado como $-\log[\text{H}^+]$, desde un punto de vista químico, el pH es el resultado del valor de la actividad de los protones en disolución. La escala de pH va desde 0 (disolución muy ácida) hasta 14 (disolución muy básica), correspondiendo el 7 a una disolución neutra. Las aguas naturales tienen un valor de pH que puede variar desde 4,5 hasta 9. A nivel español y europeo, el valor óptimo de pH se encuentra en el intervalo de 6,5-9,5. Según la OMS, el control de calidad para agua potable (agua de consumo humano) estaría entre 6,5-8,5. No se fija ningún valor de referencia recomendado de pH sino que se establecen intervalos ya que la salubridad no se ve implicada directamente. Como ejemplo, en España, el valor de pH del agua de consumo medio en 2018 fue de 7,76⁵.

El **ion sulfato (SO_4^{2-})** es un anión inorgánico muy habitual en aguas, ya sean superficiales o subterráneas. El origen de los sulfatos en aguas subterráneas (donde más alta es la concentración de estos aniones) está en minerales del tipo anhidrita o yeso (CaSO_4) que son muy solubles en agua. También se liberan al agua por precipitaciones atmosféricas y por acciones industriales debido a su gran aplicación en el ámbito industrial químico (farmacia, fertilizantes, etcétera). Si bien su presencia no suele ser peligrosa para la salud, concentraciones por encima de 1000 mg/L (300,0 mg/L en niños) producen efectos laxantes, así como deshidratación. La normativa española y europea fija un valor máximo de 250,0 mg/L (que principalmente está asociado con el sabor que concretamente se le asigna al sulfato de sodio). El promedio de sulfatos de un agua potable, en el año 2018 en España, se situó en 73,02 mg/L⁵.

El **ion cloruro (Cl^-)** es un anión muy soluble en agua y responsable principal de la salinidad de ésta. Obviamente, en aguas marinas la concentración es muy alta. En aguas “dulces”, la concentración de este anión es relativamente pequeña y raramente presenta riesgos sanitarios, procediendo normalmente de minerales y rocas. El agua de lluvia aporta iones cloruros gracias al efecto conocido como aerosol marino. En sistemas de distribución hídricos se ha detectado cloruro de vinilo, producto dañino para la salud. Un exceso de ion cloruro en agua incrementa la corrosión de materiales. Si bien la OMS no ha estipulado ningún valor de referencia de cloruros en cuanto a la calidad del agua de consumo, la legislación europea y española sí ha establecido un valor límite de 250 mg/L, no tanto por su potencial de peligrosidad sino porque en concentraciones superiores podría verse afectado el sabor del agua (también dependiendo del catión acompañante). A modo de referencia, en España, el promedio de concentración de ion cloruro en aguas de consumo fue, en 2018, de 75,93 mg/L⁵.

Los **iones carbonato (CO_3^{2-}) e hidrogenocarbonato (HCO_3^-)** son especies aniónicas que se caracterizan por sus propiedades ácido-base. El origen natural de estas especies inorgánicas es muy diverso pero principalmente se encuentran en distintos minerales (calcita, dolomita), rocas sedimentarias (calizas) o de naturaleza metamórfica (mármol), además de constituir parte del soporte de las areniscas. Estos aniones forman sales alcalinas que se van a encontrar disueltas en el agua, si bien, más allá de carbonatos alcalinos, su solubilidad es bastante baja. En agua, principalmente se encuentran como sus sales cálcicas y la legislación no establece ningún valor de

referencia para estos aniones más allá del de la dureza del agua (aguas blandas o duras) que viene marcado por la presencia de cationes Ca^{2+} (su contra-ion más habitual en las aguas) y Mg^{2+} .

Los **cationes Ca^{2+} y Mg^{2+}** son los responsables de la llamada “dureza” de las aguas. Ninguno de ellos se encuentra libre en la naturaleza pero sí se pueden encontrar en alimentos no procesados y en aguas naturales⁶. Se disuelven fácilmente en agua desde donde se encuentran formando la sal con sus respectivos aniones: caliza rica en CaCO_3 , yeso y anhidrita rica en CaSO_4 , fluorita en CaF_2 o el apatito en $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$, entre otros y magnesita MgCO_3 y una amplia variedad de silicatos como por ejemplo el talco rico en $\text{H}_2\text{Mg}_3(\text{SiO}_3)_4$, sepiolita que contiene $\text{MgSi}_3\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ u olivino Mg_2SiO_4 . La legislación no presenta ningún valor de referencia para los cationes divalentes de calcio y de magnesio porque no hay indicios de que afecten perjudicialmente a la salud. De hecho, ambos elementos son considerados micronutrientes esenciales para el organismo regulando muchas funciones celulares y actuando como co-factores de algunas reacciones enzimáticas. Sí se ha constatado el efecto laxante del Mg^{2+} en altas concentraciones en agua. La OMS clasifica las aguas como “blandas” con un máximo de 60 mg/L de CaCO_3 , “moderadamente dura” (61-120 mg/L), “dura” (121-180 mg/L) y “muy dura” (181 o más mg/L).

Los **cationes Na^+ y K^+** son los metales alcalinos más abundantes en el planeta estando presentes en la composición de distintos minerales como la silvina (potasio) o la halita y sal gema (sodio). Ambos forman la bomba de iones de Na/K cuyo fin es mantener constante el gradiente electroquímico en las células (citoplasma-medio extracelular) que facilita la actividad del sistema nervioso y la musculación. Diversos estudios, no confirmados todavía, establecen la hipótesis de que la concentración de sodio influye en la hipertensión arterial. Para el sodio, la normativa española y europea establece un valor de 200 mg/L mientras que la OMS no fija ningún valor desde el punto de vista sanitario. El promedio de sodio en aguas de consumo fue, en 2018, 45,62 mg/L⁵. Para el potasio sin embargo, hoy en día no hay ningún valor establecido como valor paramétrico según la legislación.

1.3.2. Sustancias no deseables

El nitrógeno es relativamente abundante en la composición química de los seres vivos. El nitrógeno oxidado que estos reciben en forma de ion nitrato (NO_3^-) es transformado a grupos aminoácidos (sustancias base de las proteínas), lo que subraya su importancia. Además, los compuestos nitrogenados son imprescindibles como nutrientes en seres autótrofos como las plantas para la formación de proteínas vegetales y van a ser fácilmente convertidos unos en los otros mediante procesos de oxidación-reducción gracias al O_2 y a distintos microorganismos como bacterias (también en el interior de los organismos).

A pesar de esa importancia para el desarrollo de la vida, en general, los compuestos de nitrógeno son considerados como sustancias no deseables en aguas de uso y consumo humanos. El estudio y control de algunos de estos compuestos es importante debido a sus efectos contaminantes de aguas superficiales y subterráneas⁷. Además, la química de los compuestos de nitrógeno es a menudo compleja porque presentan hasta siete estados de oxidación diferentes. Los compuestos nitrogenados presentes en la naturaleza están relacionados con el N_2 atmosférico (que constituye un 79%) de acuerdo al ciclo (de fijación) del nitrógeno (conjunto cerrado de procesos biológicos y abióticos que se basa en el suministro de este elemento a los seres vivos) (figura II).

Este trabajo se centrará en el desarrollo de procedimientos de análisis de las tres especies iónicas principales generadas en dicho ciclo, esto es, los aniones **nitrato (NO_3^-)**, **nitrito (NO_2^-)** y el **ion amonio (NH_4^+)**. Su presencia en los excrementos de seres humanos y animales, los procesos de descomposición de las plantas y sus usos industriales (fertilizantes y abonos) hacen que los citados

aniones (muy solubles) acaban tanto en las aguas superficiales como, y fundamentalmente, en las subterráneas⁸. El ion nitrato en sí mismo no presenta efectos nocivos a la salud humana debido a que es eliminado gracias al riñón. Sin embargo, su forma reducida, el ion nitrito, es capaz de oxidar el hierro presente en la hemoglobina y llevarlo a Fe (III) y originando episodios de metahemoglobinemia (lo que se traduce en una reducción del transporte necesario de oxígeno en las células) que afecta gravemente a bebés recién nacidos.

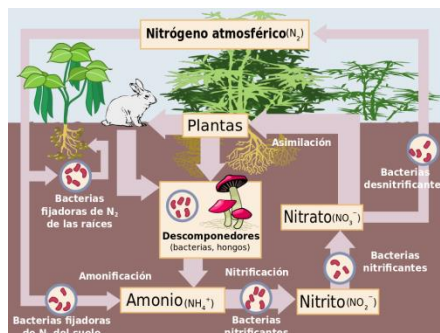


Figura 2. Ciclo del nitrógeno (Johann Dréo - NitrogenCycle.svg, CC BY 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=39748410>)

El ion amonio sólo presenta toxicidad en humanos cuando se encuentra en altas concentraciones debido a la posibilidad de reducir la sensibilidad a la insulina provocando intolerancia a la glucosa. En concentraciones normales, es eliminado por medio de la orina. La legislación europea y española para ion nitrato establece un valor máximo de 50 mg/L siendo un valor guía aceptable de 25 mg/L (también son valores aceptados por la OMS). Para el ion nitrito, en cambio se establece que la suma de las concentraciones de nitratos y nitritos en mg/L dividido por cada concentración máxima permitida por la OMS (50 mg/L y 3mg/L respectivamente) tiene que ser menor que 1 mg/L. En el caso del ion amonio se fija el valor de 0,5 mg/L (en este caso la OMS no establece ningún valor paramétrico). A modo de referencia, en 2018, los promedios de concentración de ion nitrato, ion nitrito e ion amonio (expresados en mg/L) en aguas de consumo en España fueron 9,74; 0,01 y 0,11, respectivamente⁵.

El ion **fluoruro (F)** es un anión que, en concentraciones bajas, previene el efecto de las caries pero, en concentraciones altas, causa efectos muy perjudiciales sobre la salud humana. Desde fluorosis ósea hasta precipitación del calcio en forma del fluoruro de calcio pasando por la formación de complejos con los centros metálicos de algunas enzimas. El fluoruro se encuentra tanto en el agua de superficie como en la subterránea, si bien en la primera su concentración suele ser mucho más baja (0,01 - 0,3 mg/L) que en la segunda (1 – 5 mg/L). En el agua subterránea, la concentración natural de fluoruro depende de aspectos químicos, geológicos, de las características físicas del acuífero, de la porosidad y acidez de la tierra y piedras, de la temperatura, de la acción de otros elementos químicos, y de la profundidad de los pozos de extracción. Así, por ejemplo, se informó que en Kenia y África del sur los niveles podían exceder los 25 mg/L⁹. En el extremo, se han reportado concentraciones de 38,5 mg/L en India. La legislación marca un valor máximo de 1,5 mg/L en aguas potables, siendo 0,21 mg/L el valor promedio de concentración de ion fluoruro en España en 2018⁵

El **hierro (Fe)** es un elemento metálico muy abundante en la corteza terrestre. El hierro se encuentra de manera natural en acuíferos, si bien sus niveles de concentración en aguas subterráneas pueden aumentar por disolución de rocas ferrosas¹⁰. El hierro (II) es soluble en agua y no es especialmente problemático. Sin embargo, una oxidación de hierro (II) a hierro (III) que forma

hidróxidos insolubles y corrosivos puede generar problemas en sistemas de distribución. En este sentido, podría ser posible observar que, al extraer aguas subterráneas anaerobias (sin ningún tipo de coloración) y ponerlas en contacto con la atmósfera, aparezca un color debido a la oxidación de Fe(II) a Fe(III) a causa del O₂ atmosférico. A pesar de que la OMS en 1993 retiró el valor de referencia que tenía fijado por falta de evidencias sanitarias que afirmaran un efecto perjudicial para la salubridad, el marco legal español y europeo de aguas potables sitúa el valor paramétrico en 200 µg/L. A modo de referencia, señalar que, en España, en 2018, se registró un valor promedio de hierro en aguas de consumo de 21,67 µg/L⁵.

El **cobre y el cinc** han sido clasificados como elementos no deseables en aguas de uso y consumo humano. Los minerales de Cu más comunes son la calcocita, covelina, calcopirita, malaquita y azurita, mientras que los minerales más abundantes de Zn están representados por la blenda, wurzita y smithsonita. El cobre y zinc están presentes de forma natural en el agua, pero las concentraciones están aumentando por causas no naturales, fundamentalmente las actividades humanas. Además de por disolución de minerales de cobre y zinc, es conocido que se libera cobre al medioambiente (y parte de él termina en las aguas) en las tormentas de polvo, la descomposición de la vegetación, los incendios forestales y en los aerosoles marinos. Por otro lado, actividades humanas como la minería, la producción de metal, la producción de madera, la combustión de carbón y residuos, la producción de fertilizantes fosfatados, el procesado del acero, la industria galvánica, la producción de pilas, y un largo etcétera, generan residuos de cobre y zinc que suelen terminar en el agua. En el caso de cobre, la corrosión de las tuberías de este metal ha sido, históricamente, una fuente de contaminación adicional, al igual que los tanques o reservorios de zinc utilizados para contener alimentos líquidos. Ambos son oligoelementos, esenciales para la vida en cantidades traza, si bien las ingestiones de cantidades excesivas pueden perjudicar la salud y, por encima de cierto nivel, incluso resultar tóxicos. El cobre en el organismo puede producir irritación gastrointestinal y por eso desde el punto de vista sanitario se estableció el valor de referencia en la legislación de 2 mg/L. El valor promedio de cobre en agua potable en España en 2018 fue de 0,03 mg/L⁵. En el caso del zinc, no hay evidencias claras que muestren una peligrosidad sanitaria y por tanto no hay valores de referencia fijados, si bien se constató que concentraciones superiores a 3 mg/L le dan un sabor muy desagradable al agua. En aguas subterráneas el intervalo normal a encontrar está entre (0,01-0,05) mg/L y en aguas potables inusualmente supera los 0,1 mg/L.

1.3.3. Sustancias tóxicas

Otro de los “grupos” de sustancias presentes en el agua son las conocidas como sustancias tóxicas. Estos compuestos confieren toxicidad y por tanto suponen un gran riesgo para la vida. El efecto de estas sustancias es variable porque van desde la aparición de ciertas enfermedades como por ejemplo renales producidas por el cadmio, pasando por efectos teratogénicos (problemas relacionados con embarazos) ocasionados por el plomo -que también genera problemas neurológicos- y terminando por los efectos cancerígenos atribuidos al níquel (sin descartar que otros compuestos incluidos en esta clasificación de sustancias tóxicas). En este grupo de contaminantes se encuentran desde sustancias inorgánicas (principalmente metales pesados) que se localizan bien como minerales, bien como sales, hasta sustancias orgánicas resultados de los distintos procesos químicos utilizados en industrias petroquímicas y farmacéuticas.

Como ocurría en las sustancias no deseables, muchos de los compuestos tóxicos considerados tóxicos son, a nivel traza, esenciales para la vida. El problema se manifiesta cuando se bioacumulan en el organismo (la mayoría de ellos lo hacen) y alcanzan unos niveles de concentración

a los cuales manifiestan su toxicidad en muchos de los órganos vitales. En la tabla I se muestran algunos de los contaminantes tóxicos del agua.

El **cadmio** se libera al medioambiente de manera natural en cantidades significativas. La mitad de este cadmio acaba en el agua, superficial o subterránea, a consecuencia de la descomposición de rocas. Además, los incendios forestales y erupciones volcánicas emiten cadmio a la atmosfera (cadmio que termina también, tarde o temprano, en el agua). Finalmente, las actividades humanas también contribuyen a la presencia de cadmio en las aguas, por ejemplo, en la producción de fertilizantes fosfatados artificiales que, al utilizarse, contaminan el suelo con cadmio así como las aguas subterráneas. El cadmio puede ser transportado a grandes distancias cuando es absorbido por el lodo y contaminar aguas superficiales y suelos.

Se han encontrado relativamente altas concentraciones (0,4 – 0,8 mg/L) de **plomo** en depósitos de agua en montañas de caliza y galena. En aguas superficiales y subterráneas su concentración es apreciablemente menor. Además del aporte natural, la industria (fabricación de baterías, pantallas) y la minería son los principales contribuyentes en la contaminación de acuíferos. En redes de suministro antiguas, el plomo que se utilizaba para las tuberías puede disolverse parcialmente en el agua potable que pasaba a su través contaminándola para el consumo. El plomo tiene la particularidad de acumularse en la sangre y tiene unos efectos neurotóxicos muy graves.

Tabla I. Contaminantes tóxicos importantes en la calidad del agua con respecto a los niveles de concentración permitidos por la legislación europea y nacional, así como por la OMS, incluyendo, asimismo, valores reales medidos en el año 2018 en España⁵

Contaminante	España/UE (µg/L)	OMS (µg/L)	Valor promedio en España en 2018 (µg/L)
Cadmio	5	3	0,23
Plomo	10	10	0,84
Níquel	20	70	1,17
Cromo	50	50	1,26
Fenol	*	*	*
BTEX:			
Benceno	1	0,01	0,11
Tolueno	--	0,7	--
Etilbenceno	--	0,3	--
Xileno	--	0,5	--

(*) No se han encontrado datos actuales, ni tampoco mediciones en España para los fenoles. No obstante, se puede fijar un valor referencia si se remonta a la ya derogada Directiva 75/440/CE respecto a la calidad de aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable (aprobada en 1975) y que estableció una concentración máxima permitida, expresada en fenoles (índice de fenoles por el método de la 4-aminoantipirina), de 0,001 mg/L. La United States Environmental Protection Agency (US EPA) establece un valor de 6 mg/L para una exposición no mayor de 10 días (fijándose en la salubridad de los niños) y estableciendo un valor de 2 mg/L de fenol en agua potable que no causa ningún daño sanitario. Además, la FDA, establece que la cantidad máxima de fenol embotellada no debe superar los 0,001 mg/L.

(**) Valor recomendado por la OMS referenciado en el benzo(α)pireno.

El **níquel** es un elemento relativamente abundante en la corteza terrestre. Se cree que existen grandes cantidades en el núcleo terrestre y se han hallado cantidades apreciables de níquel en algunos tipos de meteoritos. Hay níquel en el petróleo y en la mayor parte del carbón. Dos minerales donde se puede encontrar son los sulfuros de hierro y níquel, pentlandita y pirrotita ($(\text{Ni}, \text{Fe})_x\text{S}_y$); el mineral garnierita, $(\text{Ni}, \text{Mg})\text{SiO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. El aporte “no natural” del níquel a la atmósfera viene de las plantas de energía y las incineradoras de basuras. La gravedad y la lluvia lo depositarán en el suelo y será absorbido e inmovilizado por los sedimentos. Sin embargo, en suelos ácidos, existe la

posibilidad de que movilice y pueda alcanzar aguas subterráneas. El níquel, a nivel traza, es un elemento esencial en los animales y plantas pero, al igual que todos los elementos incluidos en este apartado, es tóxico cuando se excede la máxima cantidad tolerable. Parece ser la causa de varios tipos de cánceres en animales, sin embargo, no parece que se acumule en plantas o animales, con lo cual no se biomagnifica en la cadena alimentaria.

El **cromo** se encuentra en el aire, agua y suelo en forma de cromo (III) y cromo (VI) a través de procesos naturales y actividades humanas. Las actividades humanas que incrementan las concentraciones de Cr(III) son el acero, las peleterías y las industrias textiles, pintura eléctrica y algunas aplicaciones industriales que utilizan Cr (VI). Estos usos incrementan la concentración del cromo en agua. También el cromo emitido en la combustión del carbón, en contacto con agua, puede disolverse y entrar así en el ciclo hidrológico. El Cr (III) es un nutriente esencial para los humanos y la falta de este puede causar problemas de corazón, trastornos metabólicos y diabetes. Por el contrario, su exceso puede causar efectos sobre la salud también, por ejemplo, erupciones cutáneas. El Cr (VI), por el contrario, es mayoritariamente tóxico para los organismos y es reconocido su carácter cancerígeno. Por contacto origina erupciones cutáneas y, al ser respirado, irritación y sangrado de la nariz. Problemas respiratorios, gástricos, renales, hepáticos, sistema inmunológico son otros de los efectos contrarios a la salud causados por presencia en exceso de Cr (VI).

Los **fenoles**, definidos como hidroxiderivados del benceno y sus núcleos condensados, pueden estar presentes en las aguas residuales domésticas e industriales (desinfectantes, fungicidas, germicidas y conservadores), en las aguas naturales y en los suministros de agua potable. Los fenoles se absorben rápidamente por la inhalación del vapor, en contacto con la piel y por ingestión, alcanzándose una concentración nociva en el ambiente por evaporación de la sustancia a 20°C. Cuando la exposición a la sustancia es de corta duración, el vapor es corrosivo al contacto con los ojos, la piel y el tracto respiratorio, pudiendo causar graves quemaduras. Por inhalación provoca alteraciones en el sistema nervioso central, el corazón y el riñón, dando lugar a convulsiones, alteraciones cardíacas, fallos respiratorios, colapsos, estado de coma e incluso la muerte.

BTEX es el acrónimo de benceno, tolueno, etilbenceno y xileno y son compuestos orgánicos volátiles (COV) que se encuentran en los derivados del petróleo (normalmente en los cortes de destilación más ligeros). Llegan al suelo y a las aguas subterráneas en zonas cercanas a refinerías de petróleo y gas natural, gasolineras y zonas con tanques de almacenamiento (ya sea subterráneo o sobreelevado) de las fracciones más ligeras del petróleo.

El benceno es una sustancia cancerígena y muy tóxica para los animales provocando alteraciones y malformaciones en sus organismos, como, por ejemplo, el retardo en la formación de los huesos y daños en la médula. En altas dosis, el tolueno, el etilbenceno y el xileno producen efectos nocivos sobre el sistema nervioso central; a dosis bajas y moderadas se producen síntomas de cansancio, confusión, debilidad, pérdida de memoria, náuseas, pérdida del apetito y de vista. En cualquier caso, su toxicidad es mucho menor que la del benceno.

1.4. Técnicas y métodos de análisis. Análisis clásico y análisis instrumental

Una posible clasificación de las técnicas de análisis de la química analítica se basa en la separación del análisis clásico del instrumental. El análisis clásico engloba las gravimetrías y las volumetrías y se caracteriza por medir propiedades absolutas de la materia, en concreto la masa (las volumetrías miden volumen pero siempre relacionado con la masa del agente valorante). Por otra parte, el análisis instrumental comprende todas aquellas técnicas que miden propiedades relativas de la materia (absorción/emisión/refracción/difracción de radiación, ionización de especies,

conductividad eléctrica, diferencia de potencial, etc...) y, en consecuencia, necesitan de un método de calibración para conocer la concentración/masa del analito analizado^{11,12}.

La elección de unas u otras dependerá de varios parámetros analíticos; así, las técnicas clásicas suelen ser más exactas y precisas, si bien tienen relativamente poca sensibilidad con respecto a los instrumentales. Otro parámetro analítico relevante es la selectividad. Ésta depende de la técnica y método de análisis, del analito y de la matriz, por lo cual puede suceder que una determinada técnica sea selectiva para una determinada pareja analito-matriz y no lo sea para ese mismo analito en una matriz distinta.

En este trabajo, las **técnicas clásicas de análisis** que se desarrollarán se basan en análisis gravimétrico (ion sulfato) y en análisis volumétrico (iones cloruro, carbonato, hidrogenocarbonato y calcio y magnesio -dureza del agua-). En relación a las técnicas instrumentales, se utilizará la potenciometría (electrodo selectivo de iones) para el análisis de iones fluoruro y amonio, las técnicas espectroscópicas atómicas para el análisis de cobre, zinc, potasio, sodio, cadmio, plomo y níquel, las moleculares para la determinación de ion nitrato, nitrito, fosfato, hierro y cromo hexavalente y las técnicas de separación cromatográficas para la determinación de fenoles (cromatografía líquida) o los BTEX (cromatografía de gases).

La gravimetría es una técnica analítica clásica que consiste en la pesada de una sustancia que se forma durante una reacción y que se relaciona directamente con el analito que nos interesa determinar. Se busca la precipitación de un sólido de alta pureza (composición conocida) gracias a una reacción estequiométrica en la que está involucrado el analito en cuestión, y que éste además de que presente una solubilidad relativamente baja que facilite su filtrado y que contenga partículas lo más grande posibles por la misma razón y porque eso implicará que arrastrarán menos contaminantes (una sustancia en polvo por ejemplo tiene mayor superficie específica que un cristal de precipitado). Para conseguir este aumento de tamaño de partículas se puede jugar (aunque no siempre) con la concentración de reactivos, la cinética de la reacción y con la temperatura del experimento puesto que al aumentar lo hace de la misma forma la solubilidad.

La volumetría es una técnica de análisis clásico que consiste en medir qué volumen de un reactivo (de concentración perfectamente conocida) se debe gastar hasta que se genere una cierta reacción en la sustancia que está siendo analizada. Al igual que la gravimetría, permite llevar a cabo análisis cuantitativos. El final de la volumetría lo marca el punto de equivalencia que, en la práctica, suele visualizarse por un cambio de color –aunque no siempre- de una disolución auxiliar conocida como “indicador”. La reacción química que tiene lugar debe de ser estequiométrica y con una cinética rápida (constante de velocidad grande), por consiguiente las constantes de equilibrio deberían ser las mayores posibles. Las volumetrías son históricamente bien conocidas y aunque actualmente están siendo paulatinamente desplazadas por técnicas instrumentales, siguen siendo un método por referencia para el análisis de algunos analitos en determinadas matrices. Existen cuatro tipos de volumetrías (clasificadas en función de la reacción química que tiene lugar): (i) volumetrías ácido-base, donde la reacción es una reacción ácido-base y que en este trabajo se desarrollará para la determinación de los iones carbonato e hidrogenocarbonato; (ii) volumetrías de formación de complejos, conocidas como complexometrías cuando se utiliza ácido etilendiaminotetraacético como agente valorante, y que se utilizarán para la determinación de los iones calcio y magnesio; (iii) volumetrías de precipitación, las cuales se basan en la precipitación del analito con el agente valorante y que, en este trabajo, se utilizará para la determinación del ion cloruro por el método de Mohr; y (iv) las volumetrías de óxido-reducción (redox), que si bien no se utilizarán en este trabajo, bien se podrían incluir en, por ejemplo, la determinación de la demanda química de oxígeno. El

principal error que se comete en una volumetría es la diferencia entre el punto de equivalencia real y el punto final experimental.

Como ya se ha adelantado, las **técnicas instrumentales de análisis** requieren de un método de calibración para resultar cuantitativas. Existen distintos métodos de calibración siendo los más habituales la calibración con patrón/es externo/s, calibración por normalización de áreas, calibración con patrón interno, calibración por adición de patrón/es, así como combinaciones de ellos. Cualquiera de ellos implica la obtención previa de la relación matemática entre la concentración del analito y la señal¹³. Esa relación permitirá obtener la concentración desconocida del analito mediante la medida de la propiedad física en la que se basa la técnica instrumental. El método de calibración más sencillo y, normalmente más utilizado es la calibración con una serie de patrones externos. Así, una serie de patrones del analito que queremos cuantificar son medidos bajo las mismas condiciones que el analito de la muestra. Esas parejas de valores “x” e “y” se ajustan por mínimos cuadrados (preferiblemente a una ecuación de primer orden), obteniéndose los valores de pendiente, ordenada en el origen y coeficiente de correlación de una recta de ecuación $y = m \cdot x + b$. Cuanto más cerca esté el coeficiente de correlación del valor 1, mejor será el ajuste de los valores a una recta. Con esa recta construida, se interpola el valor de la propiedad física arrojado por el analito de concentración desconocida y se obtendrá la citada concentración. Es muy importante ajustar el rango de concentración de los patrones para que la señal que proporcione el analito problema se encuentre dentro de ese rango. Si no es el caso (habitual en análisis de muestras de origen desconocido), será necesario “adaptar” el rango de concentración (desplazándolo arriba o debajo de la escala de concentraciones) o, si ese es el caso, diluir el analito problema. Este método de calibración es el indicado cuando no existe influencia de la matriz. Si existe dicha influencia, normalmente se utiliza el método de la adición de patrón que consigue minimizarla a valores tolerables. Este método se basa en la adición de cantidades conocidas de patrón a una serie de alícuotas de muestra y su posterior medida. En este caso, las parejas de valores “x” e “y” representan concentración/masa de patrón añadido y señal obtenida, respectivamente. De igual manera, se ajustan los datos por mínimos cuadrados (preferiblemente a una ecuación de primer orden), obteniéndose los valores de pendiente, ordenada en el origen y coeficiente de correlación de una recta de ecuación $y = m \cdot x + b$. Valores de coeficiente de correlación próximos a 1 equivalen a mejor ajuste lineal. En este caso, la recta está desplazada en el eje X, por lo que para obtener la concentración de la muestra problema hay que extrapolar la recta hasta su intersección con el eje “x” de abscisas (matemáticamente se le da a “y” valor 0 y se despeja el valor de “x”). Ese valor, en valor absoluto, representa la concentración del analito en la muestra problema.

Muy importante en cualquier método de calibración es corregir las señales del blanco (disolución exactamente igual que las disoluciones patrón y problema, salvo el analito). Los sistemas instrumentales requieren la preparación de “blancos” de disolvente y/o “blancos” de reactivos para obtener la señal que éstos generan y restársela posteriormente a la obtenida por las disoluciones patrón y problema (los equipos modernos lo hacen automáticamente cuando se les dice que tipos de disolución miden en cada momento).

Las **técnicas espectroscópicas** se basan en las interacciones de la radiación electromagnética con la materia. Esa materia puede ser molecular o atómica y la interacción citada suele ser, habitualmente absorción de radiación por parte de las moléculas o átomos (también es ampliamente utilizada la emisión atómica).

La espectrofotometría de absorción molecular UV-Vis se basa en la absorción de radiación, en esa zona del espectro, por parte de la molécula analizada. La intensidad de la absorción depende

de la longitud de onda y es máxima para aquellas λ en las que se observan transiciones electrónicas a estados vibracionales y rotacionales. Además, en un determinado rango de concentración del analito, la intensidad de la absorbancia es proporcional a la concentración de éste de acuerdo a la ley de Lambert-Beer: $A = \epsilon \cdot l \cdot c$, siendo A la absorbancia (adimensional), ϵ la absorptividad molar en $L/mol \cdot cm$ (característica para cada compuesto), l la longitud de la cubeta (en cm) y c la concentración del analito (mol/L).

La espectroscopia atómica incluye procesos de absorción y emisión de radiación electromagnética por parte de especies atómicas o iónicas. Es por ello que, en esta técnica, es fundamental el proceso de generación de los átomos del analito a determinar. La disolución del analito a determinar se aspira, se nebuliza y, finalmente, se atomiza (generalmente en una llama, pero también puede ser, por ejemplo, en una cámara de grafito). En modo absorción, los átomos generados, inicialmente en su estado de energía fundamental, son llevados a un estado “excitado” gracias a la energía térmica y a la energía producida por medio de reacciones químicas (uno de sus electrones de la capa de valencia “sube” a un estado energético superior) y, en esas condiciones, son expuestos a una radiación de longitud de onda específica para cada elemento y se produce la absorción de radiación. En modo emisión, los átomos “excitados” vuelven a su estado fundamental emitiendo una radiación de longitud de onda específica (que coincide con la energía desprendida al volver el electrón a su capa de valencia en el estado fundamental). En ambos casos, la absorción y la emisión de radiación es captada por un fotomultiplicador que la traduce a corriente eléctrica. En un determinado rango de concentraciones, ambas, absorción y emisión son proporcionales a la concentración del analito. Instrumentalmente, la diferencia entre ambas técnicas es la presencia (absorción) o ausencia (emisión) de una fuente de radiación (en concreto, en estos equipos, una lámpara de cátodo hueco) y la utilización (absorción) o no (emisión) de un sistema de monocromación de longitud de onda.

Como en todos los sistemas instrumentales, es necesario optimizar una serie de variables para obtener los resultados más exactos y precisos posibles, con máxima sensibilidad. En este caso, gases (y sus flujos) de combustión de la llama, velocidad de aspiración, posición de la llama, posición e intensidad de la lámpara de cátodo hueco y posición del monocromador.

Las **técnicas potenciométricas** son técnicas instrumentales de análisis que permiten cuantificar la concentración de una sustancia en disolución, relacionando su actividad iónica con la fuerza electromotriz (diferencia de potencial eléctrico) existente en la celda electroquímica con la que entra en contacto. Dicha está compuesta por dos electrodos, uno de ellos, el electrodo indicador del analito cuya concentración se quiera conocer y otro, el electrodo de referencia (que proporciona una diferencia de potencial constante) y que están sumergidos en la disolución de la muestra problema. En este trabajo, se desarrollarán métodos de análisis utilizando electrodos selectivos de los iones fluoruro y amonio. También se desarrollará un protocolo de análisis del pH de una disolución utilizando un electrodo selectivo de iones muy especial, el de protones, también conocido como electrodo de vidrio. Señalar que, en sistemas regidos por la ley de Nerst, la señal (en este caso, diferencia de potencial) es directamente proporcional al logaritmo de la concentración del analito.

Finalmente, las **técnicas cromatográficas** permiten separar, identificar y cuantificar analitos de matrices más o menos complejas. Las citadas técnicas se basan en una primera etapa de separación del analito (la etapa cromatográfica, propiamente dicha) y una segunda etapa de detección y cuantificación (que puede ser casi cualquiera de las técnicas existentes: espectrofotometría de absorción molecular, ionización en llama, conductividad, índice de refracción, espectrometría de masas...). La etapa cromatográfica está basada en las interacciones específicas de

cada analito con una fase estacionaria y una fase móvil situadas en una columna (o placa, en caso de cromatografía en capa fina) cromatográfica que permiten su separación del resto de componentes de la muestra¹⁴. El estado de agregación de la fase móvil es el que marcará si se trata de una cromatografía de gases (fase móvil, un gas inerte, generalmente N₂ o He) o de una cromatografía líquida (fase móvil es un líquido). La polaridad de la fase estacionaria será la que marcará si se trata de una cromatografía en fase normal (fase estacionaria polar, por ejemplo, sílica-gel y fase móvil apolar) o en fase reversa (fase estacionaria apolar, por ejemplo C₁₈ y fase móvil polar). En cromatografía de gases, la fase móvil (a veces se la llama gas portador) no interacciona con el analito, si bien sí influye en la eficiencia de la separación a través del factor velocidad de la separación. Se utilizan columnas capilares y la salida de la columna puede ser acoplada, entre otros, a un sistema de ionización de llama, uno de conductividad térmica o un espectrómetro de masas. En cromatografía de líquidos, las interacciones se llevan a cabo entre el/los analitos y ambas fases, móvil y estacionaria. Con diferencia, es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (en columna y alta presión) la más extendida y de uso generalizado. En HPLC es muy común utilizar detectores espectrofotométricos UV-VIS, evaporativos de dispersión de luz y, aunque la interfase es delicada, espectrómetros de masas. La elección de la cromatografía de gases o la de líquidos se basa, fundamentalmente en las características del analito/s. Compuestos volátiles o que pueden ser volatilizados a temperaturas inferiores de 250-300°C suelen ser analizados por cromatografía de gases (la separación se realiza con el analito en estado gas). En términos de peso molecular, el límite estaría aproximadamente en 1000 umas. Compuestos con mayor peso molecular y con temperaturas de volatilización superiores a las citadas, deberían ser analizados por cromatografía líquida. Algunos compuestos, por sus características de peso molecular y temperatura de volatilización pueden ser analizados mediante ambas técnicas, la elección de una u otra dependerá de otros factores. Sea cual sea el tipo de cromatografía y sistema de detección utilizado, siempre será necesario aplicar un método de calibración para obtener resultados cuantitativos.

2. OBJETIVOS

Se llevará a cabo el diseño de los procedimientos de toma, tratamiento y preparación de muestras de agua y los posteriores procedimientos de análisis químicos de muestra de agua de pozos situados en comunidades locales en Kédougou (Senegal). Para ello se han elegido una serie de parámetros físico-químicos básicos, sustancias no deseables y sustancias tóxicas probables en base al entorno medioambiental donde se encuentran esos pozos.

3. PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS Y TOMA Y TRATAMIENTO DE MUESTRA

3.1 Toma y tratamiento de la muestra de agua

La toma de muestra es una operación complicada puesto que requiere una porción homogénea, generalmente pequeña, de un soporte grande y generalmente poco homogéneo. El caso de muestras acuosas, la dificultad es quizás menor puesto que se la considera un medio bastante homogéneo. En cualquier caso, una buena toma de muestra tiene que tener siempre en cuenta la *representatividad*, es decir, que la muestra que se tome, que será mucho más pequeña que el objeto de análisis, y éste se puedan considerar prácticamente iguales en términos de composición química; la *homogeneidad*, que todas las partes de la disolución se puedan considerar constantes, y que sea lo más *económica y rápida* posible.

Es necesario conocer el entorno antes de ir a pie de campo a realizar las diferentes tomas de muestras, y estudiar cómo se va a proceder a recoger dichas muestras (normalmente para este estudio las decisiones consensuadas suelen estar acompañadas por las opiniones de otras personas

no necesariamente con formación química que están capacitadas para ello). Para ejecutar las distintas tomas, se ha de llevar los equipos y materiales necesarios. Como material de seguridad personal en cuanto a contaminación solo será obligatorio portar guantes y es aconsejable vestir ropa cómoda. Como material auxiliar por las distintas acciones inesperadas que puedan suceder así como se necesite para por ejemplo una etiquetación de muestras, se deberá llevar papel, bolsas, cinta adhesiva, bolígrafo...Además, como material “de laboratorio” se puede encontrar un gran abanico de instrumentos, equipos, materiales, de entre los cuales, se ha decidido en el presente, que lo más recomendado después de valorar las distintas opciones sea llevar un kit de laboratorio in situ, un equipo de filtrado, los aparatos necesarios para realizar una purga de sondeos en pozos y ladrones (botellas) de doble válvula de polipropileno o teflón¹⁵.

En cuanto al almacenamiento y al transporte, es importante seleccionar correctamente el recipiente usado para ello (puede ser en función de cual se utilice para la toma de muestra el mismo). Se elegirá el que tenga poca interacción con la muestra de agua (por ejemplo una muestra alcalina de agua puede reaccionar con el vidrio), el que proporcione un buen aislamiento sobre todo en lo referido al entorno atmosférico y que sea resistente para asegurar un buen transporte. Para almacenar y transportar las muestras tomadas, se ha propuesto que los mejores materiales para estos contenedores son el vidrio, el polietileno (si no se requiere precisión en los análisis), el polipropileno (si requerimos un análisis más conciso) y el teflón, siendo estos dos últimos los más adecuados porque el vidrio no garantiza un buen transporte. Para asegurarse de que el envase solo va a contener a la muestra de agua, se aconseja esterilizar el contenedor antes de ir a la recogida de muestras hirviéndolos en agua durante diez minutos si es posible (por tamaño) o echando una pequeña cantidad de metanol dentro del y haciéndolo evaporar.

En el caso estudiado, los sistemas a los que se va a realizar la toma de muestra principalmente son, grifos (grifos de fuentes localizadas en las distintas poblaciones) y aguas de pozos (aguas subterráneas). En cuanto a los primeros, la toma de muestra es muy sencilla. Con los tomamuestras o incluso, con un contenedor de polipropileno, se recoge el agua que se vierte del grifo cuando se ha dejado correr al menos 2 minutos. El contenedor tiene que ser de 5 L, así como la suma de distintos ladrones tomamuestras tendrá la misma capacidad total. Se ha considerado que este volumen es más que suficiente para realizar todos los análisis propuestos, como las homogeneizaciones correspondientes con el material de laboratorio así como si hubiera algún fallo experimental y hubiera que repetir algún protocolo de análisis.

En cuanto a los pozos, es posible llevar a cabo lo que se conoce como una purga de sondeos antes de realizar la toma de muestra propiamente dicha, al objeto de que la muestra que se tome sea lo más representativa posible, ya que se considera que a distintas profundidades se pueden encontrar composiciones químicas variables. También se contempla la posibilidad de utilizar un tomamuestras de doble válvula, ya que éste permite muestrear a las profundidades deseadas. Es posible entonces llenar distintos tomamuestras a distintas profundidades y luego juntarlas en el mismo contenedor (con agitación para conseguir una buena homogeneización).

Ha de tenerse también en cuenta que los cierres (con sus correspondientes tapones) deben de ser herméticos y además deben de no reaccionar con la muestra, por lo que se aconseja que sean del mismo material que el del contenedor (polipropileno). Asimismo, se debe de rellenar el volumen completo del contenedor sin dejar posibilidad de que entre una película de aire, ya que si no se pueden producir entre otras, algunas reacciones de oxidación. Una vez llenados y cerrados, es obligatorio etiquetarlos de una manera clara y concisa para poderlos siempre referenciar a la hora de sacar conclusiones de los análisis. Y, por último, se debe tanto en el almacenamiento como en el

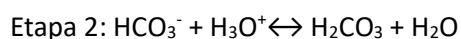
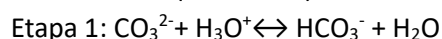
transporte, garantizar un sistema de refrigeración que posibilite la conservación de nuestras muestras a una temperatura de 4°C (así se imposibilita la proliferación de muchos microorganismos).

3.2 Parámetros físico-químicos básicos

La medida de los tres parámetros físico-químicos básicos, esto es la **conductividad, pH y temperatura** tiene sentido si se hace in situ (no obstante, el pH podría medirse con posterioridad si se preserva la muestra), es por ello que el análisis se deberá llevar a cabo con un equipo portátil que permita la medida de los tres parámetros justo al tomar la muestra. Se tomará la temperatura ambiente como referencia.

El análisis del ion **sulfato** se llevará a cabo con cloruro de bario (BaCl_2) como agente precipitante. Este es un método cuantitativo y aplicable a muestras con concentraciones superiores a 10 mg/L en este ión¹⁶. Experimentalmente, se pipetea 20 mL de la muestra a analizar, en un medio ácido de clorhídrico (1 mL) y se llevan a ebullición. En ese momento, se añade un exceso de BaCl_2 al 10% (3-4 mL) y se mantiene la disolución durante una hora a 60°C y con agitación. Posteriormente, se filtra la disolución utilizando papel de filtro cuantitativo. Una vez finalizada la filtración, se introduce el papel de filtro (con el precipitado de BaSO_4) en un crisol de porcelana (previamente calcinado y pesado) y se procede a calcinar en mufla a una temperatura que esté comprendida entre 600-800°C durante otra hora. Finalmente, se deja enfriar y se pesa. El peso del precipitado de BaSO_4 se obtiene por diferencia de pesada. Utilizando el llamado “factor gravimétrico” ($P_m \text{SO}_4^{2-} / P_m \text{BaSO}_4$; en este caso concreto, 0,4116) se obtiene el peso del ion sulfato y, teniendo en cuenta el volumen de muestra tomado, la concentración de dicho ion en la muestra, normalmente, en mg/L. Para obtener análisis precisos, es necesario repetir las determinaciones al menos tres veces y obtener valores de %RSD inferiores al 1%. En función del contenido en ion sulfato de las muestras analizadas puede ser necesario ajustar algunos volúmenes o diluciones.

Las características ácido-base de los **iones carbonato (CO_3^{2-}) e hidrogenocarbonato (HCO_3^-)** hacen que la determinación cuantitativa de ambos iones se lleve a cabo mediante una valoración ácido-base con un ácido fuerte como agente valorante. La reacción ácido-base involucrada presenta dos puntos de equivalencia, el primero cuando todo el ion carbonato pasa a ion HCO_3^- y el segundo cuando éste se transforma en ácido carbónico ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$).



El agente valorante puede ser ácido sulfúrico o ácido clorhídrico. En este caso, se contempla la utilización de un ácido clorhídrico de concentración perfectamente conocida. Se puede utilizar un patrón comercial de HCl 0,100 N o se puede preparar en el laboratorio. En este último caso, y como el HCl no es patrón primario, se prepara una disolución de concentración aproximada a 0,1 N a partir de un HCl comercial 37,5% (m/m) y densidad 1190 g/L, y, posteriormente, se titula frente a un patrón primario básico de concentración perfectamente conocida. Para ello, se pesan 1,3249g de Na_2CO_3 patrón primario, se disuelven en un Erlenmeyer al que se le añade un par de gotas de fenoftaleína como indicador, y se procede a su neutralización con el HCl de concentración aproximada 0,1N. Dado que la fenoftaleína vira en el intervalo de 10 a 8 en la escala de pH, un cambio de color en la disolución (rosa-violeta a incoloro) indicará que se ha añadido el volumen necesario de HCl para alcanzar el primer punto de equivalencia. Sabiendo que los equivalentes de HCO_3^- son iguales que los de ácido clorhídrico, entonces se puede obtener la concentración exacta del HCl utilizado. Con ese valor calculado, se procede a la determinación de los iones carbonato e HCO_3^- de la muestra. Para

ello, se toma un volumen de 5 mL de muestra de agua y se llevan a un Erlenmeyer al cual se le añade agua desionizada (des) para asegurar que la muestra está en el fondo. Se le añade un par de gotas de fenoftaleína y se procede a su valoración con el HCl recién titulado. Como ya se ha comentado, el primer punto de equivalencia se alcanza cuando la disolución vira de rosa-violeta a incoloro. En ese momento, se anotan los mL de HCl necesarios para alcanzar dicho punto de equivalencia y se continúa la valoración no sin antes añadir un par de gotas del indicador naranja de metilo. Cuando la disolución vira de amarillo anaranjado a rojo, es entonces cuando se ha alcanzado el segundo punto de equivalencia y el final de la volumetría. De igual manera, las concentraciones de CO_3^{2-} e HCO_3^- se obtendrán al igualar los equivalentes de ácido y base. En el primer punto de equivalencia se obtendrá el contenido en CO_3^{2-} de la muestra y en el segundo el de HCO_3^- que existen en la muestra más los CO_3^{2-} que se han transformado en HCO_3^- . Para obtener análisis precisos, es necesario repetir las determinaciones al menos tres veces y obtener valores de %RSD inferiores al 1%. En función del contenido en ambos iones de las muestras analizadas puede ser necesario ajustar algunos volúmenes, diluciones, etc...

La **dureza del agua**, o lo que es lo mismo, el contenido de **iones calcio y magnesio**, puede determinarse cuantitativamente mediante una valoración complexométrica con una disolución patrón de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)¹⁷. El EDTA y sus sales sódicas, no son patrones primarios y, por tanto, es necesario determinar con exactitud su concentración previamente a ser utilizado como agente valorante. Experimentalmente, para preparar una disolución de EDTA de concentración aproximada 0,01M, es necesario pesar del orden de 1,46 g de su sal disódicadihidratada y llevarlo a un volumen de 500 mL con agua (des). A partir de ahí, se valora frente a una disolución de magnesio patrón primario (0,05 g de magnesio metal se disuelven en la mínima cantidad posible de HCl y se enrasa a 250 mL con agua (des)). El acomplejamiento es 1:1 cuando está implicado el EDTA y, en este caso, es necesario tamponar a pH 10 ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_4\text{OH}$) la disolución patrón de magnesio para evitar la precipitación de hidróxido de magnesio a pH superiores a 12. Así, se pipetea 25 mL de disolución patrón de magnesio, se arrastra hasta el fondo con agua (des), se neutraliza con amoníaco concentrado/diluido para situar el pH entre 7 y 10, se tampona a pH 10 como ya se ha comentado (2 mL) y se añade una gota de disolución de indicador Eriocromo Negro T que torna a rosa la disolución. Conforme se adiciona EDTA desde la bureta, tanto el calcio como el magnesio “abandonan” su acomplejamiento con el indicador y se acomplejan con el EDTA. En el punto final de la valoración, todos los iones alcalinotérreos presentes en la muestra están acomplejados y el indicador, sin acomplejar, exhibe un color azul. El cálculo se basa en la igualdad de moles de los alcalinotérreos y el EDTA en el punto final de la valoración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

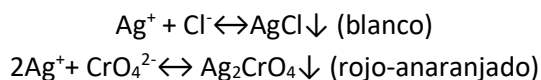
$$V_{\text{Mg}} \times M_{\text{Mg}} = V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}}$$

de la que se obtiene el valor de la concentración de EDTA. Con esta disolución de EDTA de concentración ya perfectamente conocida, se puede abordar la determinación de la dureza total (Ca+Mg) y también de la dureza cálcica y magnésica de forma individual. Al igual que ocurría en otros analitos antes considerados, en función de la dureza de las muestras a analizar, puede ser necesario diluir el EDTA y/o aumentar/disminuir el volumen de muestra a tomar. En este trabajo se utilizará un EDTA 0,001M (dilución 10/100) ya que, normalmente, no se dispone de gran cantidad de volumen de muestra. Para determinar la **dureza total**, se pipetea 5 mL de muestra además de agua (des) para llevar la muestra al fondo del Erlenmeyer y se procede de igual manera que se ha descrito para valorar el EDTA con la disolución patrón de magnesio, solo que ahora se conoce el valor de la concentración del EDTA (antes desconocido) y ahora se valora una disolución que contiene calcio y

magnesio en concentración desconocida. Cuando la disolución vira de rosa a azul, se anota el volumen consumido de EDTA y se calcula, igualando los moles de agente valorante y agente valorado, la concentración de Calcio y Magnesio. Esta concentración se suele expresar en ppm (mg/L) de CaCO_3 .

Para determinar la **dureza cálcica**, se pipetea 5 mL de muestra además de agua (des) para llevar la muestra al fondo del Erlenmeyer al que se le añaden unas gotas de NaOH para llevar la muestra a pH 12-13 (y así eliminar el Mg ya que precipita en forma de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ y que no interfiera en la determinación de calcio), y se añade murexida como indicador. Se procede a valorar con EDTA 0,001 M hasta que observar un viraje que va de rosa a violeta-morado. El volumen necesario para obtener ese viraje permitirá obtener la concentración de iones calcio en la muestra. La dureza magnésica se puede expresar como la diferencia entre la dureza total y la dureza cálcica, expresadas ambas en mg/L (ppm) de CaCO_3 . Para obtener análisis precisos, será necesario repetir las determinaciones al menos tres veces y obtener valores de %RSD inferiores al 1%.

El método de Mohr se basa en la valoración por precipitación de **iones cloruro** con nitrato de plata que forma un precipitado blanco que se torna rojizo cuando hay un exceso de iones plata y estos precipitan como Ag_2CrO_4 (se utiliza un indicador de K_2CrO_4)¹⁸. El agente valorante de esta volumetría es el nitrato de plata, que no es patrón primario, por lo que es necesario valorarlo previamente frente a una sustancia que si lo sea. En este caso, el cloruro de sodio puede ser utilizado como tal. Se pesan 0,5844 gramos de NaCl se disuelve en agua (des) y se lleva a 0,5L en un matraz aforado (710 mg/L). Por otra parte, se prepara una disolución 0,02M de nitrato de plata pesando 1,6987 gramos, disolviendo con agua (des) y enrasando a 500 mL en un matraz aforado (posteriormente se trasvasamos rápidamente a una botella de vidrio traslúcida para evitar problemas de descomposición por radiación).



Para normalizar la disolución de nitrato de plata, se pipetea 25 mL de la disolución patrón de cloruros y se arrastran al fondo de un Erlenmeyer con agua (des). Se añade 1 mL de la disolución indicadora de cromato de potasio y se adiciona el nitrato de plata desde la bureta hasta la obtención del mencionado precipitado de color rojizo (es necesario llevar a cabo la precipitación en un rango de pH entre 5-9,5, rango que puede ajustarse con HNO_3 o NaOH). Igualando los equivalentes de cloruro y los de plata se puede obtener la concentración de este último y, a partir de ahí, proceder a la determinación de los cloruros en las muestras a analizar. Para ello se pipetea entre 50 y 100 mL de la muestra (dependerá de la concentración de ion cloruro en cada muestra), se adicionará el cromato de potasio y se valorará hasta aparición del precipitado rojizo.

La determinación de **sodio y potasio** en muestras de agua se llevan a cabo, mayoritariamente, mediante emisión atómica¹⁹. Como en cualquier método instrumental de análisis, el trabajo experimental acarrea dos partes principalmente. En primer lugar, la preparación de los patrones de calibración junto con la selección y optimización de los parámetros del equipo y en segundo, la preparación de la muestra. Para el análisis de sodio y potasio por emisión atómica, es necesario seleccionar una serie de parámetros que van desde la longitud de onda (para el sodio 589 nm y para el potasio 766,5 nm, que habrá que optimizar), la altura y profundidad del mechero (que también habrá que optimizar), la anchura de rendija que habitualmente se fija en torno a 0,2 nm, y la relación aire-acetileno que suele variar entre 2:1 y 3:1, pero que salvo condiciones extraordinarias no se suele mover de la proporción 40/20 (v/v)²⁰. Los patrones de sodio se preparan a partir de una

disolución “madre” de sodio de 1000 mg/L (0,8232g de NaCl en 0,5L) y una dilución de ésta (10 mg/L, preparada tomando 1 mL de la disolución de 1000 mg/L y llevándola a un matraz aforado de 100mL). En matraces aforados de 100 mL se pipetea 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL de la disolución patrón de 10 mg/L de Na (rango de 0 a 1 mg/L). Seguidamente en cada matraz se añade el volumen de KCl correspondiente para tener una disolución al 0,2% en KCl y se enrasa con agua (des) hasta los 100 mL. Se añade KCl para controlar las posibles interferencias que puedan existir debidas a la ionización. Los patrones de potasio se preparan a partir de una disolución “madre” de potasio de 1000 mg/L (1,0501g de KCl en 0,5L) y una dilución de ésta (10 mg/L, preparada tomando 1 mL de la disolución de 1000 mg/L y llevándola a un matraz aforado de 100mL). En matraces aforados de 100 mL se pipetea 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL de la disolución patrón de 10 mg/L de K (rango de 0 a 1 mg/L). Seguidamente en cada matraz se añade el volumen de cloruro de lantano correspondiente para tener una disolución al 0,2% y eliminar así posibles interferencias químicas. Para la preparación de las muestras se toma 1 mL y se diluye a 50 mL con agua (des). Este dato es orientativo para empezar, si no entrara dentro del rango lineal establecido, se debería diluir aún más la muestra al objeto de “ajustarla” al rango de concentración de los patrones utilizados. En este caso se añaden los volúmenes correspondientes de cloruro de potasio o de cloruro de lantano, respectivamente. Se interpola el dato de la muestra en la ecuación de la recta de calibrado y se multiplica por el factor de dilución aplicado.

3.3 Sustancias no deseables

La presencia de materia orgánica en las muestras de agua interfiere en la determinación del **ion nitrato** por espectrofotometría de absorción molecular²¹. Es por ello que parece importante pretratar la muestra con 3-4 mL de $\text{Al}(\text{OH})_3$ por cada 100 mL de muestra. Se agita y se espera a que aparezca, si es el caso, un precipitado que debe ser filtrado para eliminar esa interferencia. Para este ion se utilizará el método de calibración por adición estándar (o adición de patrón) a partir de una disolución patrón “madre” de nitrato potásico (50 mg/L; 0,0408 gramos de KNO_3 se disuelven en agua (des) y se enrasan a 0,5 L). En 5 matraces aforados de 100 mL, se adicionan 5 mL de muestra en cada uno de ellos, se añaden, respectivamente, 0, 1, 2, 3 y 4 mL de la disolución patrón (0; 0,5; 1; 1,5 y 2 mg/L) y además, 1 mL de HCl 1 M. Se enrasa hasta 100 mL con agua (des). De acuerdo a la bibliografía, la longitud de onda óptima para los nitratos es de 220 nm, si bien la materia orgánica disuelta también absorbe a esa longitud de onda, es por ello que se medirá también a 275 nm puesto que a esa longitud de onda no absorben los nitratos y se puede utilizar para corregir el valor obtenido. Como ya se explicado anteriormente, en una calibración por adición de patrón se obtiene el valor de “x”, en valor absoluto, cuando el valor de “y” es igual a cero y ese valor de “x” representa la concentración de nitrato en la muestra diluida. Como el factor de dilución ha sido 5 mL en 100 mL, se deshace dicha dilución matemáticamente y se obtendrá el valor de la concentración de ion nitrato en la muestra de agua analizada.

Los **iones nitrito** también se determinan por espectrofotometría de absorción molecular. En esta ocasión se preparará una recta de calibración por patrón externo²². Para ello se utilizará una disolución patrón “madre” de 1000 mg/L de NO_2^- (se pesan 1,5000 g de NaNO_2 , se disuelven en agua (des) y se llevan a un volumen final de 1L). A partir de esta disolución “madre” se preparará una disolución intermedia de 5 mg/L (0,5mL en 100mL totales) que será con la que se preparen los puntos de la recta de calibrado. Para ello se pipetearán 0,1; 0,5; 1 y 1 mL de la disolución de 5 mg/L, 1 mL del reactivo de coloración (800 mL de agua (des) + 100 mL de H_3PO_4 al 85% + 10 gramos de sulfanilamida, se diluye y se mezcla todo, se añade 1 gramo de N-(1-naftil)-

etilendiaminadiclorhidrato y se afora con agua (des) hasta 1 L) y se llevarán a un volumen total de 50 mL los 3 primeros y a 25 mL el último (0,01; 0,05; 0,1 y 0,2 mg/L NO_2^- , respectivamente). Se espera treinta minutos aproximadamente hasta que aparezca el color (tonalidad entre azul-rojo). Las muestras se prepararán de una manera análoga a los patrones. 10 mL de muestra (volumen orientativo que puede ser necesario ajustar en función de la concentración de ion nitrito en las muestras a analizar), 1 mL del reactivo de coloración y enrase con agua (des) a un volumen total de 50 mL (se espera el mismo tiempo que se ha esperado para obtener la coloración en los patrones). Las medidas se realizarán a 543 nm y utilizando un blanco de reactivos para el ajuste de cero del equipo. Una vez medidos los patrones de calibración, se medirá la muestra y el resultado de absorbancia arrojado se interpolará en la regresión por mínimos cuadrados para obtener el valor de "x" (concentración de nitritos). Como ha habido una dilución, 10 en 50 en el caso descrito, es necesario "deshacer" matemáticamente esa dilución.

La determinación de **hierro** está consolidada utilizando la absorción molecular de un complejo de hierro con la fenantrolina que tiene una tonalidad rojiza-anaranjada²⁰. Esta determinación necesita de un pH ácido que evite la precipitación de distintas sales de hierro y el acomplejamiento solo se produce cuando el hierro está en estado de oxidación II, por lo que es necesario reducir el posible hierro (II) con clorhidrato de hidroxilamina para evitar un posible error por defecto. La cuantificación se llevará a cabo preparando una recta de calibración con patrón externo. Se preparará una disolución "madre" de patrón de hierro de 1000 ppm (se pesan 4,8400 gramos de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y se disuelven con 50 mL de agua (des) y 5 mL de HCl concentrado, posteriormente se enrasa a 1 L con agua (des)). A partir de esta disolución, se preparará una disolución intermedia de 50 ppm de hierro (5 mL de la disolución "madre" en 100 mL totales). Se preparará asimismo una disolución de clorhidrato de hidroxilamina (1,25 gramos y se disuelven en 100 mL de agua (des)). Además, se prepara una disolución de o-fenantrolina (0,1 gramos en 100 mL de agua (des)) y, finalmente, una disolución de citrato de sodio (pesando 7,5 gramos de citrato de sodio y disolviéndolos con agua (des) hasta un volumen final de 150 mL). Los patrones de calibrado se preparan a partir de la disolución intermedia de 50 ppm (en matraces de 25 mL, se pipetea 0; 0,5; 1; 1,5; 2 y 3 mL para unas concentraciones finales de 0, 1, 2, 3, 4 y 6 ppm de hierro). Seguidamente, se adicionarán 2 mL de clorhidrato de hidroxilamina, la cantidad de citrato de sodio necesaria para situar la disolución en un intervalo de pH de entre 3-4 y 3 mL de la disolución de 1,10-fenantrolina. Finalmente se enrasa con agua (des). Las medidas de absorbancia a 510 nm se realizan 10 minutos después de su preparación. Es posible realizar un espectro de absorción con uno de los patrones para confirmar la longitud de onda de máxima absorción. La disolución "blanco" (la de 0 mg/L de hierro) se utilizará previamente a las medidas para realizar el ajuste al cero del equipo. La preparación de la muestra se llevará a cabo de forma análoga. Se pipetearán 4 mL de muestra y se llevarán a un matraz de 25 mL (o si en su caso no estuviera dentro del rango propuesto, habría que modificar el volumen de muestra tomado, el volumen final o, incluso, contemplar la realización de sucesivas diluciones). En dicho matraz se añadirán los mismos volúmenes de reactivos utilizados para los patrones de calibración. Si se sospecha que las muestras pudiesen contener valores significativos de materia orgánica, en ese caso, sería necesario someter a la muestra a ebullición con HCl concentrado y una posterior filtración.

La determinación de **ion amonio** puede hacerse mediante un electrodo selectivo de iones y dada la diferente fuerza iónica en función del origen de las muestras, es recomendable utilizar un método de calibración por adición estándar para minimizar el efecto matriz²³. Tanto las muestras como los patrones deberán medirse a la misma temperatura y con las mismas condiciones de

agitación. La fuerza iónica deberá ser la misma en todas las disoluciones medidas y el pH deberá situarse entre 3 y 8,5. Ambos aspectos se garantizarán adicionando un ajustador de fuerza iónica (ISA), en este caso, sulfato de magnesio 0,1N (12,05 mg en 100 mL de agua (des)). Para proceder a la calibración se preparará una disolución patrón de amonio de 0,1 M en ion amonio (5,3490 de NH_4Cl disuelto en agua (des) y enrasado a 1L). Inicialmente se pipetearán 25 mL de muestra (volumen orientativo que podría variar en función de la concentración de ion amonio en las distintas muestras) a la que se añadirán 2,5 mL de la disolución ISA (10% en volumen) y se llevarán a una celda termostatzada a 25°C con agitación constante. Se sumergirán entonces ambos electrodos, el específico de ion amonio y el de referencia $\text{Ag(s)}/\text{AgCl(s)}$. Una vez estabilizada la señal, se anotará el valor de diferencia de potencial y se añadirá una cantidad conocida de ion amonio (a partir de la disolución patrón 0,1M) que proporcionará un cambio en la diferencia de potencial de entre 10 y 30 mV. Se medirá entonces la diferencia de potencial arrojada por la disolución “enriquecida” en ion amonio. En estas condiciones, la concentración de ion amonio en la disolución original se calculará de acuerdo a la siguiente expresión:

$$C_p = \frac{C_s \left(\frac{V_s}{V_s + V_p} \right)}{10^{\frac{E_{ps} - E_p}{S}} - \left(\frac{V_p}{V_p + V_s} \right)}$$

donde C_p será la concentración de amonio en la muestra; C_s será la concentración de amonio en la disolución patrón; V_p será el volumen de la muestra (en mL); V_s será el volumen de la disolución patrón añadida (en mL); E_p será la diferencia de potencial medida en la muestra (mV), E_{ps} será la diferencia de potencial medido en la muestra enriquecida (mV) y S la pendiente del electrodo selectivo (ver tabla II).

T (°C)	Pendiente	T (°C)	Pendiente	T (°C)	Pendiente
0	54,20	20	58,17	30	60,15
10	56,18	25	59,16	40	62,13

Tabla II. Pendientes teóricas, en función de la temperatura, del electrodo selectivo de amonio

Si la dilución provocada por la adición de la disolución patrón es muy pequeña ($V_s < 1/100V_p$), entonces la expresión se simplificará a la siguiente expresión:

$$C_p = \frac{C_s \left(\frac{V_s}{V_s + V_p} \right)}{10^{\frac{E_{ps} - E_p}{S}} - 1}$$

La determinación del **ion fluoruro** es igualmente potenciométrica. El electrodo selectivo de fluoruros actúa necesariamente con un electrodo de referencia que, en este caso, será un electrodo de $\text{Ag(s)}/\text{AgCl(s)}$ ²¹. El ajustador de fuerza iónica será una disolución de TISAB (75 mL de ácido acético glacial más 4 gramos de cyclohexilenodinitrilotetraacetato –CDTA- y 58 gramos de NaCl en 500 mL de agua (des) que se deja enfriar y a la que se añade poco a poco NaOH concentrado para asegurar un pH de 5,0-5,5 y un enrase final a 1L con agua (des)). La disolución patrón de F^- de 1000 ppm (2,2000 g de NaF en 1L de agua (des)), la disolución madre que servirá para preparar una disolución “intermedia” de 100 mg/L (10 mL de esta disolución en 100 mL totales). En el caso de los fluoruros, se preparará una curva de calibración con patrones externos de rango amplio (las concentraciones de fluoruros en agua son muy variables). Se pipetearán 0, 1, 3, 5, 10, 15 y 20 mL de la disolución intermedia de 100 ppm en matraces aforados de volumen 100 mL (0, 1, 2, 3, 5, 10, 15 y 20 mg/L $[\text{F}^-]$).

A esos matraces se adicionarán 50 mL de TISAB y se llevarán a enrase con agua (des). Las muestras serán preparadas de acuerdo al mismo protocolo que los patrones de calibración. Inicialmente se plantea tomar 10 mL de muestra. Este volumen de muestra será susceptible de ser modificado en función de la concentración de iones fluoruro de cada muestra de agua analizada. En el rango adecuado, la diferencia de potencial mostrada es proporcional al logaritmo de la concentración de iones fluoruro (de acuerdo a la ley de Nerst). Una interpolación matemática del valor de diferencia de potencial de la muestra arrojará el valor del logaritmo de la concentración de fluoruros en la muestra diluida. Corrigiendo ese valor de dilución se obtendrá el valor final de la concentración.

El tratamiento y preparación de los patrones en la determinación tanto de **cobre** como de **zinc** son parejos, por lo que el protocolo de análisis se describirá conjuntamente²⁰. Si se tienen evidencias/sospechas sobre la presencia de cantidades significativas de materia orgánica, o las muestras de agua presentan turbidez y/o sólidos en suspensión, se procederá en primer lugar a un pretratamiento de la muestra que consistirá en una digestión (calentamiento de la muestra con HNO₃ en una placa calefactora hasta ebullición y, si la disolución no es clara, se adicionará más ácido hasta conseguirlo. En caso de aparición de un precipitado no soluble en agua sería necesario filtrarlo). Sin digestión o una vez realizada, se prepararán los patrones de ambas curvas de calibración (patrones externos) a partir de disoluciones “madre” patrón de 1000 mg/L de ambos elementos (se pesa 1 g de cada elemento metálico, se disuelve en medio ácido y se enrasa a 1L con agua (des)). Será conveniente preparar una disolución intermedia de 10 mg/L (1 mL en 100 mL totales) para la preparación de los patrones de menor concentración. Para el cobre, se prepararán disoluciones de 0,5; 1; 4; 10 y 15 mg/L (tomando 5, 10 y 40 mL de la disolución de 10 ppm y llevándolos a un matraz de 100 mL con agua ácida (agua (des) a la que hemos añadido una cantidad de ácido, en este caso HNO₃ 1% v/v) y 1 y 1,5 mL de la disolución de 1000 mg/L y mismo procedimiento para los dos patrones restantes. Para el zinc, a partir de la disolución de 1000 ppm se preparará la de 10 ppm, con la que pipeteando 2,5; 5; 10; 20 y 30 mL y vertiéndolos en matraces de 100 mL y enrasando con agua acidulada se obtendrán concentraciones de 0,25; 0,5; 1; 2 y 3 mg/L respectivamente. Además de estos patrones, se necesitarán disoluciones “blanco”, que, en este caso, será la misma para ambos elementos. Inicialmente, las muestras, vengan o no de una digestión, se diluirán en un factor de 5 (20mL en un matraz aforado de 100 mL). El procedimiento para la realización de las medidas ya se ha explicado para el caso del sodio y potasio (emisión atómica) y los parámetros a optimizar son los mismos más la altura del quemador. Las longitudes de onda (iniciales) de trabajo serán 324,8 nm para el cobre y de 213,9 nm para el zinc y el tipo de llama será oxidante con una mezcla de oxidante (aire) y combustible (acetileno) al 40:20 (v/v). Se utilizarán lámparas de cátodo hueco de cobre y cinc. El valor de absorbancia de las muestras permitirá su extrapolación en las respectivas rectas de calibrado y así obtener un valor de concentración de cobre y zinc en muestras diluidas. Aplicando el facto de dilución se obtendrá el valor de cobre y zinc en las muestras analizadas.

3.4. Sustancias tóxicas

El **cadmio**, **plomo** y **níquel** se determinan, al igual que el cobre y el zinc, por absorción atómica. El procedimiento es el mismo salvo, obviamente, las longitudes de onda específicas de cada especie 228,8 nm, 217 nm y 232 nm, respectivamente²⁰. Para estos analitos se plantea una calibración con tres patrones externos. Obviamente, cuantos más patrones se utilicen en la construcción de una recta de calibrado, mejores ajustes se obtendrán, si bien en absorción atómica no es inhabitual utilizar solo tres patrones por parte de operadores experimentados. Por supuesto, se preparará un blanco que no contenga ninguno de los tres analitos. Experimentalmente se ha

demostrado que tanto el plomo como el níquel tienen un intervalo lineal mayor que el cadmio. Además, de acuerdo con la tabla I, las concentraciones, tanto permitidas como esperadas, para cadmio son cuatro y cinco veces menores que para los otros dos. Por este motivo, a partir de las disoluciones intermedias de 100 ppm de cada uno de los analitos se pipetearán los volúmenes correspondientes (0,5; 1 y 1,5 mL para cadmio -0,5; 1 y 1,5 mg/L- y 0,5; 1 y 3 mL para plomo y níquel -0,5; 1 y 3 mg/L-). Se puede iniciar el análisis de muestra tomando un volumen de 20 mL y llevándolo a 100mL, si bien estos volúmenes deberán ser optimizados de acuerdo a la concentración de cada analito en cada muestra. Se ha comprobado que el límite de detección de esta técnica para el plomo es significativamente grande, lo cual ha de ser tenido en cuenta a la hora de afirmar la presencia o ausencia de plomo.

Es posible llevar a cabo la determinación, a niveles analíticos, de **chromo (VI)** en disolución basándose en la coloración de las distintas disoluciones de éste, ya sea en forma de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ o de CrO_4^{2-} , dependiendo del pH del medio. La mayor sensibilidad se alcanza trabajando en medio alcalino. En este caso concreto, se detallará el procedimiento de análisis en condiciones básicas²¹. La disolución madre será de 100 mg/L de Cr (VI) (0,4000g K_2CrO_4 en 1L de agua desionizada). A partir de ella, se prepararán 5 disoluciones patrón de Cr (VI), en un rango de concentración de 0,05 a 1,0 mg/L de Cr (VI). También se preparará una disolución “blanco”. La muestra será diluida en función del contenido en Cr (VI) de la muestra de agua a analizar. Disoluciones patrón, problema y blanco deberán tener, todas ellas, un 40% (v/v) de disolución de KOH 0,1M en su composición. Con una de las disoluciones patrón se realizará un espectro de absorción en el rango de longitud de onda entre 300 y 400 nm al objeto de optimizar la longitud de onda de absorbancia máxima (máxima sensibilidad). Una vez fijada dicha longitud de onda, se procederá a construir la curva de calibrado, haciendo cero de absorbancia con la disolución “blanco” y midiendo, en orden creciente, las cinco disoluciones patrón. Finalmente se medirá la disolución problema. Si el valor de absorbancia de ésta última no estuviese dentro del rango de absorbancia arrojada por las disoluciones patrón, se diluirá o se concentrará hasta lograrlo.

La determinación de los **fenoles** se llevará a cabo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con un detector UV-Vis²⁴. La fase móvil se preparará mezclando una relación de volúmenes de 48,5:52,5 de metanol y agua, previamente filtrados. También es conveniente desgasificar la disolución resultante durante 10-15 minutos en un baño de ultrasonidos. La primera inyección será de 20 µL de disolución “blanco”. Se utilizará una columna de fase reversa ODS-2 (C_{18}), de 25 cm x 4 mm, y la elución será en isocrático. Se contempla la preparación de una recta de calibrado con 4 patrones con concentraciones de 5, 10, 15 y 25 mg/L a partir de cuatro disoluciones patrón comerciales de cuatro analitos distintos (fenol, ácido maleico, pirocatecol e hidroquinona) de 100 mg/L en un volumen total de 100 mL. Se preparará, para cada analito, la correspondiente curva de calibrado. Para las muestras, se pipetea 5 mL de muestra de agua en un Erlenmeyer, se desgasifica y se filtra con una jeringa de nylon recolectando el filtrado en un vial (de capacidad pequeña, en torno a 4 mL). Se inyectan por separado tanto las disoluciones patrón como las muestras, inyectando 20 µL, en modo isocrático, con un flujo de 1 mL/minuto y fijando la longitud de onda del detector a 262 nm). A la hora de cuantificar la muestra, se procede como en anteriores procedimientos por calibración por patrón externo a la interpolación.

La determinación de **BTEX** en agua se puede llevar a cabo por cromatografía de gases con detección por ionización en llama (GC-FID)²⁵. Las muestras de agua serán sometidas a un proceso de extracción líquido-líquido con diclorometano que extraerá estos hidrocarburos y, posteriormente, inyectado en el cromatógrafo. La cuantificación se llevará a cabo mediante una calibración con

patrón externo y octano como patrón interno en una columna semicapilar HP-5 (5% fenil-metil-silicona) de 15m x 0,53 mm x1,5 µm con helio como gas portador a 5 psi en cabeza de columna. Los patrones de calibración se prepararán por pesada, todos tendrán 70 mg de octano patrón interno, y los rangos de masa irán desde 0 a 180 mg para el benceno, 0 a 200 mg para el etilbenceno, 0 a 300 para el tolueno y 0 a 360 mg para el xileno. Todos los viales llevarán, además 0,5 mL de diclorometano. La cromatografía se llevará a cabo en modo Split (relación 1:20, aproximadamente) y en isoterma a 95°C o en rampa de temperatura (35°C 1 min, rampa 10°C/min hasta 55°C y una segunda rampa a 20°C/min hasta 95°C durante 1 min). Los tiempos de retención de los patrones servirán para la identificación cualitativa en las muestras de agua y se utilizarán áreas y/o alturas de pico para la cuantificación. La concentración de los distintos BTEX se determinará por interpolación en la ecuación de regresión de cada compuesto, teniendo en cuenta el factor de dilución experimental que ha sufrido la muestra en cuestión.

4. CONCLUSIONES

El presente trabajo pretende ser una “guía de procedimiento” a partir de la cual llevar a cabo el análisis de los parámetros químicos aquí contemplados en muestras de aguas, fundamentalmente, subterráneas, que se utilizan para consumo humano en las zonas descritas de Senegal. Dicho análisis permitiría establecer resultados en términos de “calidad del agua” pudiendo hacer una primera aproximación para dilucidar si es apta o no apta en términos de potabilidad a través de las correspondientes comparaciones localizadas en los documentos legislativos. Asimismo, podría servir de base, para impulsar posteriores investigaciones sobre las afecciones medio ambientales y como estas pueden influir en la mortalidad en dicho país.

Aunque no se ha tratado en el cuerpo de este trabajo, existe la posibilidad real de “validar” algunos métodos semicuantitativos de análisis de distintos parámetros químicos en agua (Kits comentados en el anexo I) lo que permitiría análisis in-situ rápidos y económicos.

5. BIBLIOGRAFIA

¹Directiva 98/83/CE del Consejo de 3/11/1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (<https://www.boe.es/doue/1998/330/L00032-00054.pdf>) (acceso jul 2020).

² Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. Boletín Oficial del Estado, 21/02/2003, núm.45. (<https://www.boe.es/buscar/pdf/2003/BOE-A-2003-3596-consolidado.pdf>) (acceso jul 2020).

³Directiva 80/68/CEE, del Consejo, de 17/12/1979 (<https://www.boe.es/buscar/pdf/1986/BOE-A-1986-10638-consolidado.pdf>) (acceso julio 2020).

⁴Real Decreto 1514/2009, de 2 de octubre, por el que se regula la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro (<https://www.boe.es/buscar/pdf/2009/BOE-A-2009-16772-consolidado.pdf>) (acceso jul 2020).

⁵Palau Miguel, M. y col. Calidad del Agua de Consumo Humano en España 2018; Informe Técnico – Ministerio de Sanidad, consumo y bienestar social, Gobierno de España.

⁶Rodríguez Zamora, J.; Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las Asociaciones Administradoras del Acueducto, (ASADAS), de cada distrito de Grecia, cantón de Alajuela, noviembre del 2008; *Revista Pensamiento Actual*, Universidad de Costa Rica, 2009, vol.9, nº12-13, p. 125-134. ISSN 1409-0112.

- ⁷Pacheco Ávila, J. y col. Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos; *Ingeniería*, 2002, vol.6, nº3, p.73-81. ISSN 1665-529X.
- ⁸De Miguel-Fernández, C y col.; Origen de los nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas; *Minería y Geología*, 2006, vol.22, nº3, p.1-9. ISSN 0258 5979.
- ⁹Fluoruro en el agua: una apreciación global ([https://www.sdpt.net/SAP/fluoruro en el agua.htm](https://www.sdpt.net/SAP/fluoruro%20en%20el%20agua.htm)) (acceso jul 2020).
- ¹⁰Hierro en las aguas subterráneas. LenntechWaterTreatmentSolutions (<https://www.lenntech.es/agua-subterranea/hierro.htm>) (acceso jul 2020).
- ¹¹Skoog, D. A. y col. *Fundamentos de Química analítica*; 8a ed.; Paraninfo, Mexico, 2011; pp 315-490.
- ¹²Gary D. C.; *Química Analítica*; 6 ed.; Mc Graw Hill; México, 2011. ISBN 978-970-10-7234-9.
- ¹³Skood, D. A. y col. *Principios de análisis instrumental*, McGraw-Hill Interamericana, Madrid 2001. Pp 16-19. ISBN 84-841-2775-7.
- ¹⁴Dabrio, M.V y col. *Cromatografía y electroforesis en columna*. Springer-Verlag ibérica. Barcelona 2000.pp 21-42. ISBN 84-07-00503-7.
- ¹⁵López Geta, J.A. y col "Procedimiento de muestreo". En: *Guía operativa para la recogida, almacenamiento y transporte de muestras de aguas subterráneas destinadas al análisis químico y bacteriológico*, Instituto Tecnológico Geominero de España, Madrid 1997, pp6-22. ISBN 84-7840-307-8.
- ¹⁶AENOR. *Calidad del agua. Determinación de sulfatos. Método gravimétrico*. UNE 77048. Madrid: AENOR 2019, Junio 2019.
- ¹⁷AENOR. *Calidad del agua. Determinación del contenido de calcio. Método volumétrico con EDTA*. UNE 77-013-89. Madrid: AENOR. Septiembre 1989.
- ¹⁸AENOR. *Calidad del agua. Determinación de cloruros. Valoración de nitrato de plata con cromato como indicador (Método de Mohr)*. UNE-ISO 9297. Madrid: AENOR. Septiembre 2013.
- ¹⁹Cisne Altamirano, J.I.; Validación y evaluación de la incertidumbre en la determinación de Na,K, Ca y Mg por espectrofotometría de emisión y absorción atómica en muestras geotérmicas y aplicación de geotermómetros para estimar la temperatura del reservorio. Universidad nacional autónoma de Nicaragua UNAN LEÓN, 27 agosto 2009.
- ²⁰Guiones de prácticas de la asignatura Experimentación en Química (Ingeniería técnica industrial, especialidad química industrial, 2002, EUITI, Universidad de Zaragoza).
- ²¹Guiones de prácticas de la asignatura Experimentación en Química (Grado en ingeniería química, 2019, EInA, Universidad de Zaragoza).
- ²²Guiones de prácticas de la asignatura Análisis instrumental para el control de calidad en la industria (Grado en ingeniería química, 2019, EInA, Universidad de Zaragoza).
- ²³Alberdi Martínez, S.; Validación de métodos analíticos para la determinación de Amonio, Nitrato y Carbono Orgánico en aguas de estuario; Trabajo de Fin de Grado, Universidad del País Vasco, Fac. Ciencia y Tecnología, 2015.
- ²⁴Guiones de prácticas de la asignatura Química Analítica del medio ambiente, (Ingeniería técnica industrial, especialidad química industrial, 2006, EUITI, Universidad de Zaragoza).
- ²⁵Guiones de prácticas de la asignatura Análisis medioambiental y de tóxicos (Grado en Química, 2019, Fac. Ciencias, Universidad de Zaragoza).

ANEXO I. “KITS” COMERCIALES SUSCEPTIBLES DE SER UTILIZADOS EN ANÁLISIS RÁPIDOS “IN SITU” Y SU POSIBLE VALIDACIÓN CON MÉTODOS DE LABORATORIO

Estos kits están pensados para el análisis de elementos/compuestos en acuarios (nutrientes de plantas y peces) pero pueden ser “adaptados” para el análisis de esos elementos/compuestos en aguas de abastecimiento. La determinación es semicuantitativa pero permite conocer la concentración aproximada y, en consecuencia, permite tomar decisiones in situ acerca de la calidad del agua respecto al parámetro analizado. Sería posible, además, “validar” estos kits comparando los resultados que arrojan con los obtenidos mediante los protocolos de análisis descritos en la memoria del trabajo, para el mismo elemento/compuesto, tras un procedimiento cuantitativo en el laboratorio.

A modo de ejemplo, se relacionan a continuación varios de esos kits manufacturados por Sera GmbH. Sera es una empresa que tiene su sede localizada en el distrito de Heinsberg/Renania del Norte-Westfalia y que tiene una distribución de sus productos a nivel mundial. La información aquí descrita se ha obtenido de la web de la compañía (<https://www.sera.de/es/>). Los tests propuestos se pueden comprar individualmente desde aproximadamente 8,00 euros (el más barato) pero en este caso es mucho más económico comprar el denominado Aqua-test box (+Cu) – Sera que se sitúa entre unos 70,00-80,00 euros incluyendo todos los tests que se reflejan en el siguiente Anexo I.

Sera pH-test: Para determinar el pH en el agua que se quiere analizar cuantitativamente, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42982_42983_42984_-INT- sera-ph-test_05-2018.pdf. El procedimiento se fundamenta en la adición de unas gotas del correspondiente reactivo, la agitación de la disolución y la observación rápida del color aparecido. Es una forma de medición del pH aproximada, ya que se compara el color con la escala mostrada en la figura 1-Anexo I. Aproximadamente este test incluye reactivo para 100 mediciones de pH.

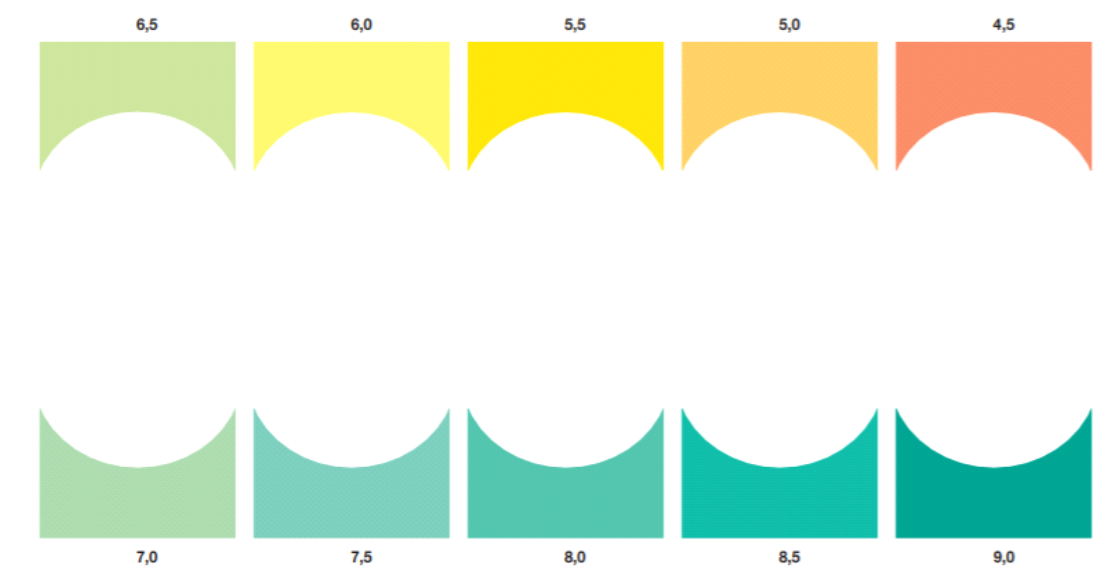


Figura 1-Anexo I. Intervalo de la escala de color del resultado del análisis del pH (4,5-9,0) utilizando un Kit rápido Sera

Sera test de kH: Para determinar los carbonatos en el agua dulce, se siguen las instrucciones detalladas en el proporcionado prospecto por la caja del test, que igualmente se encuentran aquí

detalladas: [https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42978_42979_42980 -INT- sera-kh-test_09-2018.pdf](https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42978_42979_42980_INT-sera-kh-test_09-2018.pdf), y que consiste en el conteo de las gotas de reactivo añadidas una a una hasta la aparición de una tonalidad amarilla. El resultado semicuantitativo del contenido de carbonatos, vendrá dado por “°dKH”, y por tanto, por ejemplo, 10 gotas añadidas será igual a 10 °dKH. Incluye material como para aproximadamente 390°dKH.

Sera test de gH: Para la determinación de la dureza total del agua, se procede al cumplimiento de las instrucciones de uso que proporciona la caja del test, asimismo como en el siguiente enlace que se encuentra en la página de internet correspondiente a la empresa fabricante Sera, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/04110_sera_gH-Test_2015-06_INT.pdf. Resumidamente, se añaden gota a gota el correspondiente reactivo hasta que la disolución de agua muestra un color verde. El cómputo de las gotas indicará el contenido de la dureza total expresada en “°dGH”. El equivalente es el siguiente: 1 gota de reactivo adicionada es igual a 1 °dGH. Incluye material para aproximadamente 420°dGH.

Sera test de amonio/amoniaco ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$): Para determinar el contenido de las especies amonio y amoniaco en agua, se aplica el protocolo de análisis proporcionado por el fabricante y que además se puede encontrar en el siguiente enlace adjunto a continuación, [https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/43010_43011_43012 -INT- sera-ammonium-ammoniak-test_05-2018.pdf](https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/43010_43011_43012_INT-sera-ammonium-ammoniak-test_05-2018.pdf). Como es bien conocido, estas dos especies se interconvierten dependiendo del pH de la disolución en la que se encuentren. Por tanto, además de medir de forma semicuantitativa el amonio y el amoniaco, deberá de medirse el pH. Se expresará el resultado en concentración de amoniaco a partir de la figura 3-Anexo I que relaciona el pH de la disolución con la concentración del ion amonio semicuantificado con la escala de color comparativa mostrada en la figura 2-Anexo I. Incluye material para aproximadamente 60 mediciones.

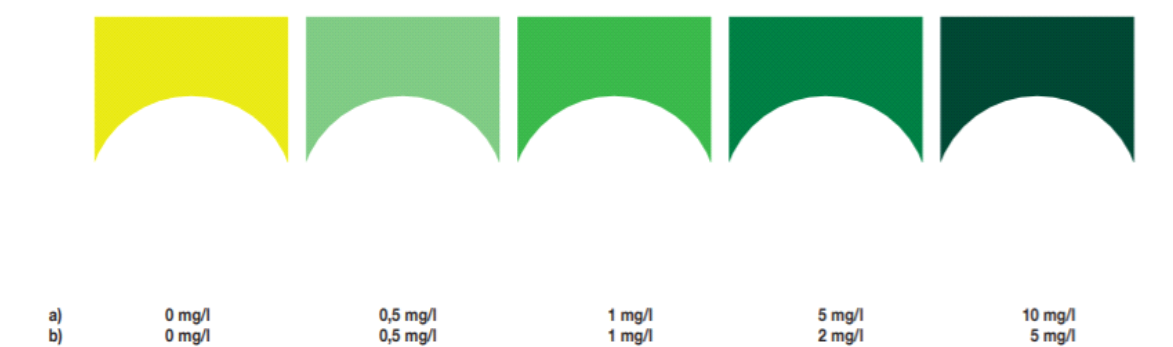


Figura 2-Anexo I. Escala de color del resultado del análisis de amonio utilizando un Kit rápido Sera

NH ₄	valor pH					contenido efectivo de NH ₃ en mg/l
	7	7,5	8	8,5	9	
0,5 mg/l	0,003	0,009	0,03	0,08	0,18	
1 mg/l	0,006	0,02	0,05	0,15	0,36	
2 mg/l	0,01	0,03	0,11	0,30	0,72	
5 mg/l	0,03	0,09	0,27	0,75	1,80	
10 mg/l	0,06	0,17	0,53	1,51	3,60	

= inocuo
 = nocivo en caso de exposición permanente
 = alta toxicidad

escala cromática:
 a) agua dulce
 b) agua salada

Figura 3-Anexo I. Expresión del valor del contenido de NH₃ que relaciona la cantidad de NH₄⁺ y el pH

Sera test de nitrito (NO₂⁻): Para determinar el contenido de nitritos tanto en agua dulce como en agua salada se sigue el procedimiento descrito en el prospecto, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42990_42991_42992_-INT-_sera-nitrit-test_05-2018.pdf, se podrá estimar de una manera semicuantitativa la concentración de nitritos presentes en el agua mediante la escala de color que aparece en la figura 4-Anexo I, así como la relación de este contenido con la calidad del agua mostrada en la figura 5-Anexo I. Incluye material para aproximadamente 75 mediciones.

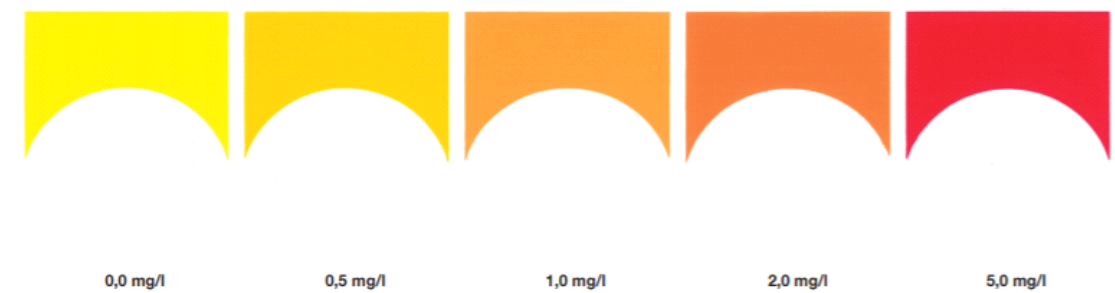


Figura 4-Anexo I. Escala de color del resultado del análisis de nitritos utilizando un Kit rápido Sera

Calidad del agua:

NO ₂	Descripción, medidas
0,0 mg/l	buena, inocua
0,5 mg/l	aún inocua, en caso necesario aplique sera toxivec y sera bio nitrivec o sera pond toxivec y sera pond bio nitrivec
1,0 mg/l	perjudicial, aplique sera toxivec o sera pond toxivec o realice un cambio parcial de agua
2,0 mg/l	peligrosa, aplique sera toxivec o sera pond toxivec varias veces o realice un cambio parcial de agua
5,0 mg/l	tóxica, aplique sera toxivec o sera pond toxivec varias veces de forma inmediata y realice un cambio parcial de agua

Figura 5-Anexo I. Tabla que muestra la relación entre la concentración de nitritos y la calidad del agua

Sera test de nitratos (NO₃⁻): Para la determinación semicuantitativa de los iones nitratos en agua dulce como en agua salada, se sigue el protocolo de análisis detallado por la empresa Sera, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42994_42995_42996_-INT-_sera-

[nitrat-test_05-2018.pdf](#), que también viene descrito en el prospecto proporcionado por la misma caja del test. Este procedimiento es un poco más tedioso ya que implica hasta cuatro reactivos diferentes. No obstante, la parte experimental es sencilla siguiendo el orden descrito. Una vez aplicados todos los pasos, se espera a observar la tonalidad resultante de la disolución y se compara con la escala de color que se incluye en la figura 6-Anexo I para semicuantificar. Incluye material para aproximadamente 60 determinaciones.

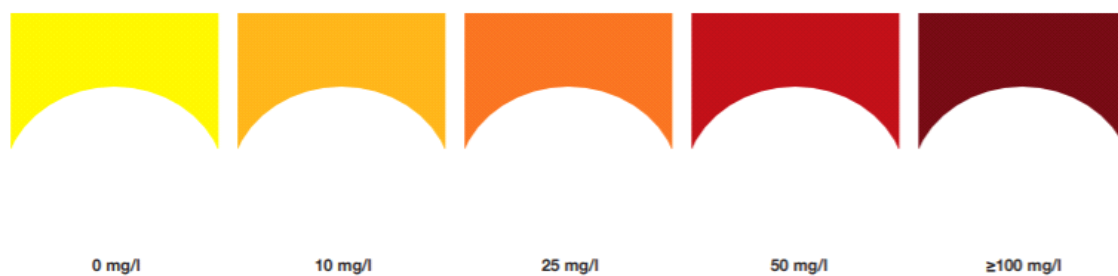


Figura 6-Anexo I. Escala de color del resultado del análisis de nitratos utilizando un Kit rápido Sera

Sera test de hierro (Fe): Para determinar hierro en agua dulce, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/42998_42999_43000_-INT-_sera-eisen-test_05-2018.pdf, tras el seguimiento del procedimiento allí descrito se obtiene un color que depende de la concentración del hierro presente y que es semicuantificada con una escala de color comparativa como la mostrada en la figura 7-Anexo I. Incluye material para aproximadamente 75 mediciones.

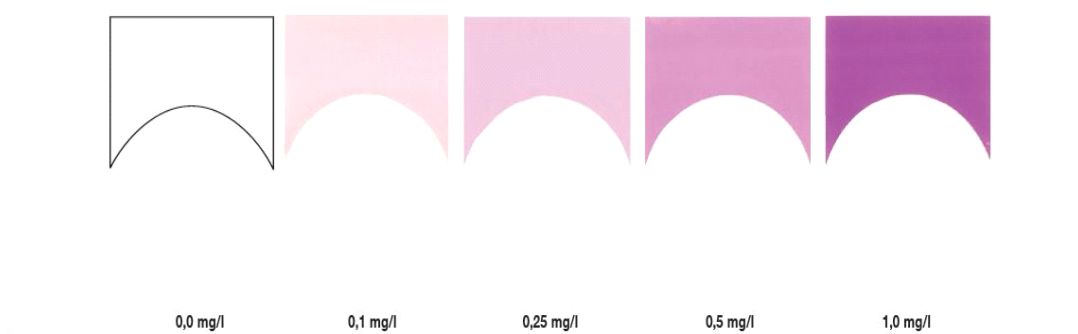


Figura 7-Anexo I. Escala de color del resultado del análisis de hierro utilizando un Kit rápido Sera

Sera test de cobre (Cu): Para determinar el contenido de cobre en el agua dulce como salada, la empresa establece un protocolo de análisis que se puede visualizar tanto en el prospecto de la caja del test como en el siguiente enlace a pdf, https://cdn.sera.de/fileadmin/user_upload/manuals/sourcefiles/04710_sera_Cu-Test_2015-06_INT.pdf. Si tras aplicar todos los pasos, se obtiene una disolución con tonalidad oscura, es decir, con concentración de cobre mayor de 1,0 ppm, se procederá a hacer una dilución de la muestra para el análisis semicuantitativo y estar dentro de la gama de colores proporcionados por la escala de color comparativa mostrada en la figura 8-Anexo I. Esta dilución corresponde a 5 mL+ 5 mL. Incluye material para unas 50 mediciones.

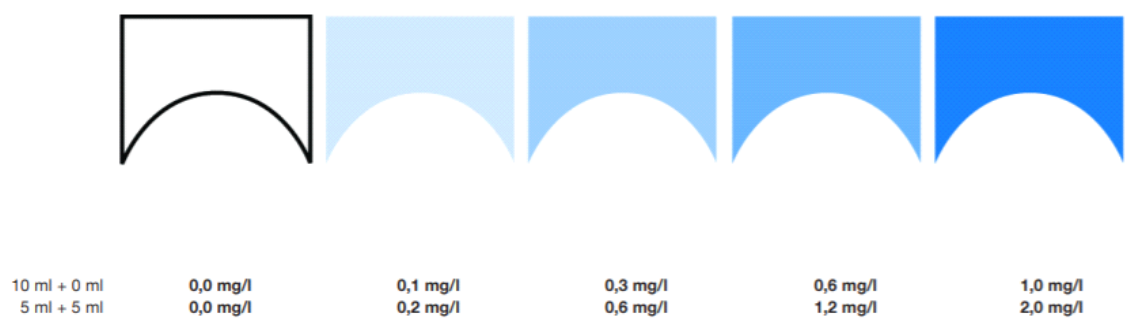


Figura 8-Anexo I. Escala de color del resultado del análisis de cobre utilizando un Kit rápido Sera

ANEXO II. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Este apartado de los anexos del trabajo incide en el interés de una buena presentación de los resultados conseguidos experimentalmente en el laboratorio, así como el tratamiento necesario para llegar a ellos. A su vez, se precisa un tratamiento estadístico básico para luego poder establecer hipótesis o no, en cuanto a la relación de las distintas localizaciones donde se tomen las muestras, pudiendo llegar a afirmar o descartar si hay evidencias significativas entre ellas.

La operación estadística más importante sin duda alguna es la desviación estándar (expresada indistintamente como s o σ), cuya fórmula matemática se muestra a continuación y la cual indica precisión:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^N (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

donde \bar{x} es el valor promedio, x_i cada valor correspondiente a cada medición y n el número totales de mediciones

Además, será importante tener claro otros dos conceptos que se van a utilizar como lo son la media (también llamado promedio) y la varianza:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Media o promedio

$$\sigma^2 = \frac{\sum_1^N (x_i - \bar{X})^2}{N}$$

Varianza (cuadrado de la desviación estandar)

El tratamiento de los resultados, así como la manera para llegar a ellos, se realizará utilizando el software Excel ©Microsoft Corporation, por lo que es de máxima importancia el conocimiento de cómo se obtienen estos estadísticos. La desviación estándar, el promedio y la varianza responden, respectivamente, a los siguientes comandos en Excel: = DESVEST(); =PROMEDIO();=VAR(), introduciendo en el paréntesis el conjunto de celdillas en los que se encuentran los datos de los que se quieran obtener esos parámetros.

Otra herramienta importante a hora del tratamiento de datos experimentales es el test o prueba Q de Dixon. Básicamente permite decidir si se rechaza o no un determinado resultado considerado “atípico” por el analista (Ver Quimiometría, Carlos Mongay Fernández, servicio de publicaciones de la universidad de Valencia, Valencia.2005. ISBN:9788437059235). Como recomendación se aconseja que, una vez acabada la práctica experimental, se ordenen de forma creciente los valores obtenidos y si se tiene una sospecha en alguno de ellos, porque es un valor anómalo en comparación con el resto, se realice el estadístico Q experimental del valor sospechoso y si es mayor que el crítico (están tabulados) se rechace. Acto seguido ya se sigue con la cuantificación del resultado y con la correspondiente incertidumbre. Los valores que son rechazados se conocen como errores aleatorios.

Para detectar errores accidentales, se suelen confeccionar diagramas de control o también conocidos como Diagramas Shewart (ver siguiente imagen, figura 1-Anexo II).

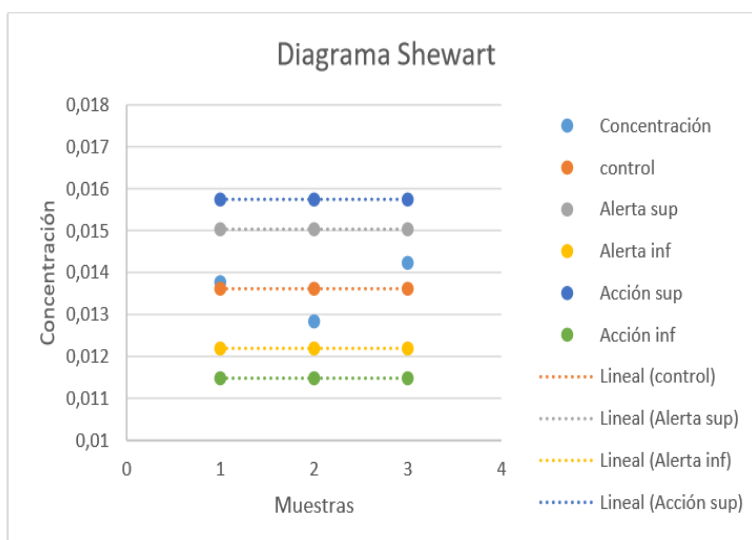


Figura 1-Anexo II

¿Cómo se realizan?

La línea de control es una línea horizontal que viene dada por la concentración promedio resultante de las muestras (en la imagen se observan tres muestras). Posteriormente se implanta en el gráfico las rectas de alerta tanto inferior como superior. Éstas se calculan sumando y restando al valor promedio utilizado para la recta de control, 2 veces la desviación estándar de los valores. Y para el caso de las líneas de acción superior e inferior es el mismo procedimiento, pero en vez de multiplicar por un factor de 2, se multiplica 3 veces la desviación estándar de los resultados conseguidos y se suma y resta al valor de control. Finalmente se introducen los valores reales obtenidos para cada muestra como puntos discretos y se observan donde se sitúan. En el ejemplo de la imagen, los valores reales se sitúan dentro de la zona de control y por tanto no se dispone de pruebas estadísticas de que existan errores accidentales (más información en http://www.quimica.urv.es/quimio/general/grafics_de_control.pdf).

Otro tema muy importante a considerar y que muchas veces se pasa por alto a la hora de expresar un resultado, son las cifras significativas y los redondeos (intermedios y finales). Si la última cifra es 5 o más (hasta 9) y hay posibilidad de redondear (de acuerdo a la exigencia de cifras significativas), se quita esta última cifra y se sube una unidad a la anterior cifra a ésta. Las cifras significativas son los dígitos de un número que se consideran no nulos. Son significativos todos los dígitos distintos de cero. Los ceros situados entre dos cifras significativas son significativos. En números mayores que 1, los ceros a la derecha de la coma son significativos. Las cifras significativas en un resultado de análisis vienen fijadas, normalmente, por la precisión en la pesada de los patrones.

El intervalo de confianza es también, un recurso estadístico extensamente usado para la expresión de resultados. Si bien la desviación estándar indica la precisión ante un método, no muestra lo lejos o cerca que se está a la hora de comprobar el valor medio obtenido del valor verdadero (la conocida como exactitud). Es por ello que se expresa el resultado como un intervalo de confianza en el que se presupone que se encuentra el valor verdadero con una determinada probabilidad. Los límites que quedan por arriba y por abajo de este intervalo se denominan límites de confianza, y la probabilidad de que el valor verdadero μ , se localice dentro de este intervalo, se

denomina comúnmente nivel de confianza. El nivel de confianza que generalmente se aplica es el de 95%. De todas formas, se suele indicar para no llevar a equívoco. El intervalo de confianza se formula como:

$$\mu = \bar{X} \pm t \frac{s}{\sqrt{n}}$$

,donde **t** es el valor de la t de student (está tabulado en la figura 2-Anexo II y que está en función de la probabilidad que queramos y de los grados de libertad (n-1)), **s** la desviación estándar del promediado y **n** el número de mediciones (réplicas).

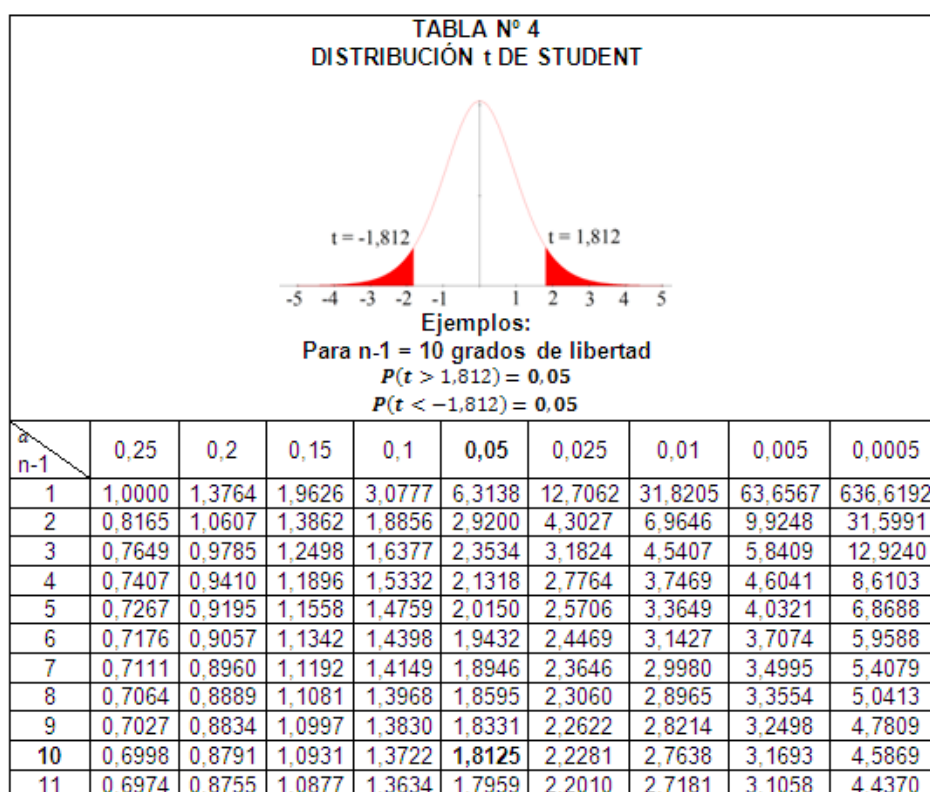


Figura 2-Anexo II

La desviación estándar relativa (RSD en sus siglas en inglés), también conocido como coeficiente de variación (CV) es un parámetro estadístico muy importante que refleja la dispersión a la hora de expresar un resultado. Como la desviación estándar, nos va a reflejar la precisión del procedimiento además de repetibilidad y variabilidad de los datos en cuanto a la media de la población (valores obtenidos). Este parámetro es adimensional y se suele expresar en forma de porcentaje. Matemáticamente se obtiene de la siguiente manera:

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} \cdot 100\%$$

, donde σ es la desviación estándar y μ es el promedio de la muestra

Tanto en las gravimetrías como en volumetrías, la expresión de los resultados viene dada por el valor promedio conseguido experimentalmente con el símbolo más/menos del resultado obtenido

del cálculo del intervalo de confianza a la probabilidad que se quiera (se recomienda el 95%) indicando por tanto el intervalo de confianza. Además, también se suele expresar el %RSD que indica principalmente la precisión del analista. En volumetrías, valores de %RSD inferiores a 1 indican que se trabaja en valores adecuados de precisión.

Ejemplo de estudio estadístico en una calibración con patrones externos

En realidad, con todos los métodos de análisis hay que expresar los resultados como un valor promedio de todos los medidos con su respectiva incertidumbre o intervalo de confianza. Sin embargo, el uso de las incertidumbres es amplio y variado y puede ir desde su expresión como desviación estándar hasta una incertidumbre combinada.

Cuando se hablaba en el trabajo de realizar la recta de calibrado con las disoluciones patrón que fueran las que fueran, se refería a lo siguiente. En la figura 3-AnexoII se va a explicar como ejemplo de calibración por patrón externo. La plantilla de calibración utilizada en este ejemplo ha sido creada por el prof. Vicente Ferreira (Dept. Química Analítica, Universidad de Zaragoza) para su uso por parte de los estudiantes de la asignatura Química Analítica II del grado en Químicas.

Una vez preparadas las disoluciones estándar, en este caso de 0, 2 y 10 ppm se procede a su medición obteniendo una señal (en el trabajo se hace referencia a la absorbancia) para cada concentración. Estos datos aparecen en la tabla amarilla. Una vez introducidos en la tabla amarilla, directamente se genera la representación gráfica que aparece en la imagen con la correspondiente ecuación matemática y coeficiente de correlación. Esta imagen no es justo una situación idílica de una buena recta de calibrado pero nos sirve para que se comprendan los principales conceptos. Para que fuera buena recta, R^2 por lo menos tendría que empezar con 0,99 y tener algún punto más para que fuera más representativa.

En el recuadro verde de la izquierda de la gráfica, se muestran distintos valores estadísticos de la representación. Y en el recuadro amarillo-verde de justo debajo del que se acaba de explicar, se introduce el valor promedio de las señales de la muestra junto con el número de mediciones (m) y se obtiene instantáneamente el valor de la concentración (interpolada en la ecuación de la recta de calibración) con la incertidumbre global y de calibración. Estas incertidumbres normalmente no vienen en las unidades con las que queremos expresar posteriormente el resultado, por lo que habría que pasarlas a las unidades correspondientes; o a veces si se calcula por ejemplo la incertidumbre combinada, se necesitaría que fuesen adimensionales, para ello lo que se hace es dividir las por lo que corresponda.

$$U \text{ combinada total} = \sqrt{s_{cal}^2 + s_{replicas}^2 + s_{trat}^2}$$

La incertidumbre de calibración en este caso sería de 0,439600713 que habría que pasar a las unidades de concentración (las que se van a expresar para exponer el resultado obtenido). La incertidumbre de réplicas viene de, calcular la desviación estándar de las réplicas de una muestra que obligatoriamente tienen que estar ya expresadas en unidades de concentración (la que se quiere dar para poner el resultado) y, en caso de que se tenga varias muestras de la misma muestra, es decir, por ejemplo, M1, M2 y M3, serían tres alícuotas distintas entre ellas, pero de tomadas de la misma muestra a la que a cada una se hacen cinco réplicas. Entonces, el valor de la incertidumbre de réplicas sería la raíz cuadrada de la suma de las desviaciones estándar al cuadrado de cada muestra.

Por último la incertidumbre de tratamiento, vendría de la raíz cuadrada de suma adimensional de cuadrados de los distintos factores que se tengan en cuenta dentro del procedimiento experimental, multiplicado por la concentración de la submuestra (lo que se denomina la alícuota que está diluida o que por lo menos no es la muestra original) o la muestra, ya

que tiene que tener unidades de concentración. Un ejemplo se puede observar en la figura 3-Anexo II. Las U (incertidumbres) que provienen del material, son valores que han debido de ser ya obtenidos por un apartado de calibración del material. Y claro, se dividen pues por el volumen o la masa correspondiente medida en él para hacerlo así adimensional. En el caso de la figura 4 - Anexo II la correspondiente raíz se multiplica ya por la concentración de muestra, por lo que dentro de ella se tiene que incluir la de la submuestra.

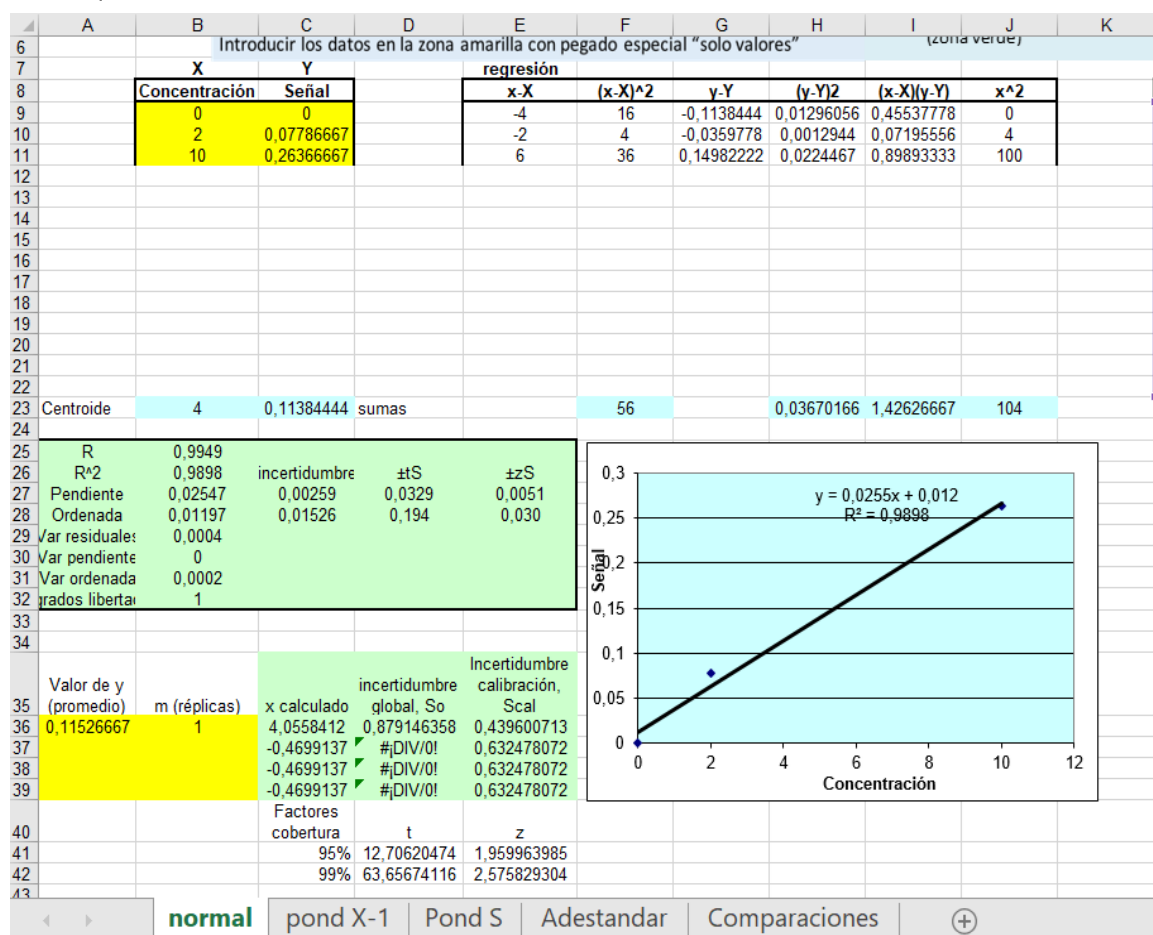


Figura 3-Anexo II

$U \text{ combinada total} = \sqrt{s \text{ cal}^2 + s \text{ replicas}^2 + s \text{ trat}^2}$		0,25681676
S calibracion	0,4396	
s^2 calibracion en unidades de muestra		0,06498
S replicas	0,02501964	
s^2 replicas	0,00062598	
s trat	0,018678	
s^2 trat	0,00034887	
$U \text{ tratamiento} = C \text{ muestra} \times \sqrt{\frac{U \text{ submuestra}^2}{C \text{ subnmuestra}^2} + \frac{U \text{ matraz (lixiviado)}^2}{V \text{ matraz}^2} + \frac{U \text{ secado}^2}{\% \text{ secado}^2} + \frac{U \text{ muestra agreg}^2}{gr \text{ muestra agreg}^2}}$		
C sub	0,054468	
U sub	6,44E-04	
U matraz (lix)	1,261	U muestra a
V matraz	250	gr muestra a
U secado	3,72E-03	
% secado	0,94513243	

Figura 4-Anexo II

Además de seguir el procedimiento descrito para llegar a poder expresar el resultado con su correspondiente incertidumbre (también se puede expresar el intervalo de confianza ya mencionado) es muy importante también incluir en el documento en el que se presenten los resultados, la sensibilidad, el límite de detección y el límite de cuantificación (todas ellas expresadas en términos de concentración). A veces también se puede incluir el rango lineal, también en unidades de concentración.

La sensibilidad (de calibración) viene dada por la ecuación de la recta. Es la pendiente, y en consecuencia, es “m” en la ecuación matemática de la recta $y = m \cdot x + n$. Si se quiere referir a la sensibilidad analítica sería la división de la pendiente de la recta entre la desviación estándar para una determinada concentración. El límite de detección, LD (LOD en inglés); se calcula midiendo la desviación estándar del blanco, multiplicándola por tres, y dividiendo por k (la sensibilidad, la pendiente de la recta). El LD indica con fiabilidad cual es la menor cantidad de la especie (analito) que puede ser detectada diferenciándose del ruido de fondo. El límite de cuantificación, LC (LOC en inglés); se obtiene igual que el LD pero a diferencia de que en vez de multiplicar por tres, aquí el factor es de diez. Éste parámetro informa de la mínima cantidad de analito que puede ser cuantificada con cierta fiabilidad. El último mencionado, hace referencia al rango lineal. Es el intervalo en el que la curva de calibración es una recta y será útil porque a veces el analito en cuestión no proporciona un valor de señal en el rango de la recta de calibrado construida y, por tanto, habrá que concentrar o diluir la muestra o ampliar el rango. O quizás, se puede dar el caso de que no se tengan evidencias de analito, pero eso no significa que no esté contenido en la muestra, sino que, de haberlo, estaría “por debajo de” por ejemplo, el límite de detección.

También es importante hacer hincapié en que bien, esto último mencionado, está principalmente dirigido a las técnicas instrumentales en las que requerimos hacer la calibración por patrones externos. Pues bien, se habla de que se quiere hacer una recta de calibrado, lo que significa una recta, y no una curva, aunque a veces se mencione como curva de calibración. Es por eso, que el ajuste para hacer la representación gráfica en emisión atómica, para que dé lugar a una recta con un buen coeficiente de correlación, se recurre a la representación de la señal (absorbancia) frente a la raíz de la concentración. Es fundamental tener siempre ese concepto en la cabeza, porque luego a la hora de obtener los resultados en concentración habrá que elevarlos al cuadrado.

Ejemplo de calibración por adición estándar

Aunque bien es cierto que en el trabajo la mayoría de las determinaciones que requieren un análisis instrumental se recurren a calibraciones por patrones externos, hay en algún caso que se describe un protocolo de análisis en el que se utiliza el método de adición estándar. Se ha puesto las figuras 5 y 6 del Anexo II porque en el trabajo también, se dice que se puede extrapolar y salir una concentración negativa y que no hay que preocuparse, pues se toma el valor absoluto de ella. Por lo cual, con las dos figuras se pueden contemplar los dos tipos de ejemplos que se pueden encontrar, es decir, concentraciones extrapoladas tanto positivas como negativas. La plantilla de calibración utilizada en este ejemplo ha sido creada por el prof. Vicente Ferreira (Dept. Química Analítica, Universidad de Zaragoza) para su uso por parte de los estudiantes de la asignatura Química Analítica II del grado en Químicas.

Aquí también, se expresa el resultado obtenido con su correspondiente incertidumbre (o intervalo de confianza). La incertidumbre que se suele poner es la incertidumbre combinada y se va a proceder a explicar cómo se realiza y, el intervalo de confianza aparece descrito al principio de esta parte del Anexo.

La incertidumbre como se ha explicado en el punto anterior, tiene que llevar las mismas unidades que la del resultado que se proponga, por tanto, como todas las incertidumbres, la raíz cuadrada tendrá que ser multiplicada por las unidades de concentración de la muestra oportunas. En el caso de la adición estándar la incertidumbre combinada será igual a:

$$U \text{ combinada} = C \text{ muestra} \times \sqrt{\frac{s \text{ cal}^2}{x \text{ interpolada}^2} + \frac{s \text{ réplicas}^2}{\text{"promedio de lo que se esté midiendo"}^2}}$$

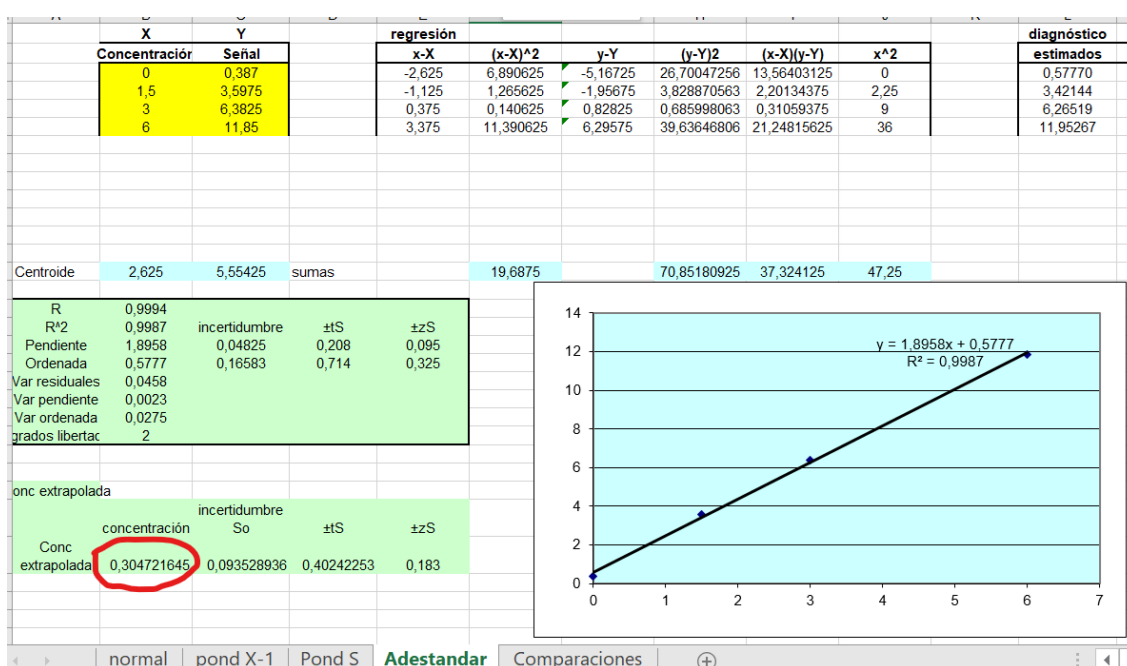


Figura 5-Anexo II

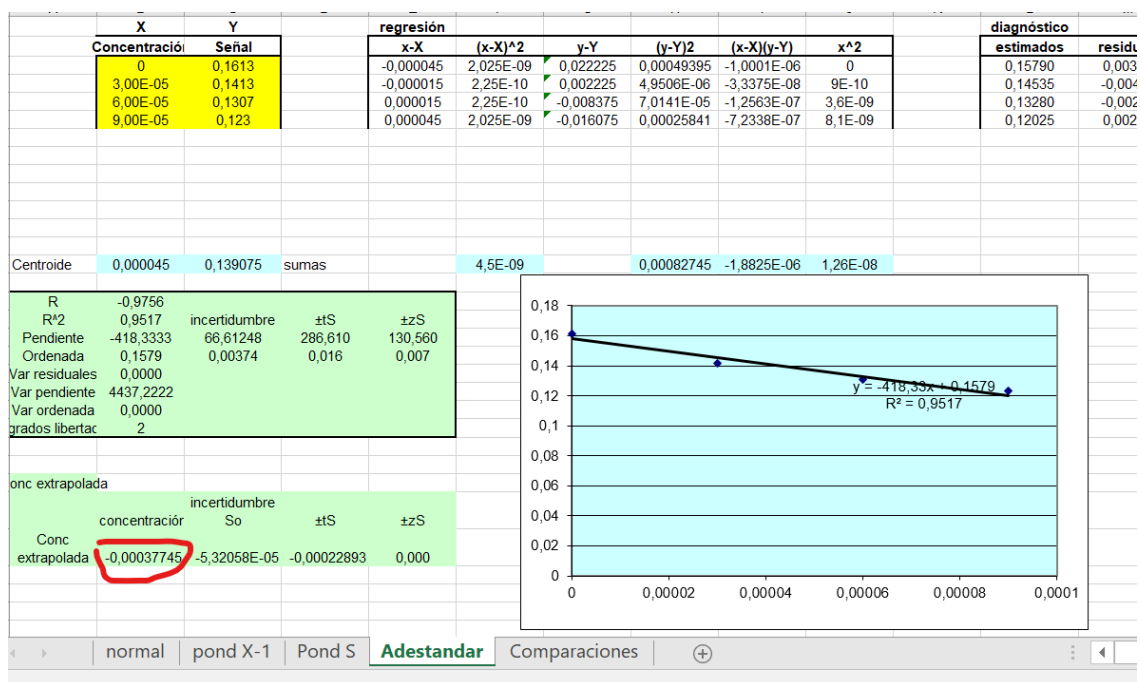


Figura 6-Anexo II

Además de que se puede expresar la incertidumbre combinada como se acaba de explicar, el intervalo de confianza que siempre puede estar presente en un resultado, es bastante común que en resultados de experimentos que requieren este tipo de metodología (adición estándar), se exprese la RSD ya comentada.

Dentro de la adición estándar, se debe decir, que de esta manera es como se va a proceder al cálculo de los iones NH_4^+ y F^- que se realizaban mediante el método potenciométrico como es el electrodo selectivo de iones.

Ejemplo de cálculo y expresión del resultado en una técnica cromatográfica

En el caso del análisis de BTEX (cromatografía de gases) se recomienda seguir el siguiente esquema para llegar a la expresión de los resultados (se van a poner imágenes como ejemplos para hacer más fácil su entendimiento). En primer lugar, se construye una tabla con los datos experimentales de los tiempos de retención con sus correspondientes áreas (ya que queremos cuantificar) de la disolución patrón.

	Tiempo (min)	Area ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)
Benceno	1,185	99530,28
Tolueno	2,416	130657,30
Etilbenceno	5,103	113725,56
Xileno	5,450	155358,21
Estireno	6,476	155377,81
Naftaleno	16,486	225775,28

Tabla I- Anexo II

Lo siguiente que se recomienda es calcular los límites de detección para cada analito que conforma las siglas BTEX. Para ello, se debe tener los datos de las alturas de los picos resultantes de la disolución patrón y del ruido en la zona. El límite de detección, LD; se calculará entonces como la cantidad de compuesto que daría tres veces la altura del ruido promedio en la zona del pico correspondiente, siendo, por tanto, el límite de cuantificación diez veces la altura del ruido promedio. Como ejemplo, el límite de detección para el benceno asumiendo un ruido de 45 μV queda de la siguiente forma:

Nuestra altura de ruido electrónico promedio fue de: 45 μV

Altura de benceno (patrón): 33966,88 μV

Para calcular el límite de detección para cada compuesto, multiplicamos por tres el ruido electrónico (135 μV) y hacemos una regla de tres.

Para el benceno:

33966,88 μV \rightarrow 20 $\mu\text{g/L}$

135 μV \rightarrow x

LD benceno = 0,08 $\mu\text{g/L}$

Es muy importante ahora, que se calcule el factor de respuesta del analito en la disolución patrón para después proceder a su cuantificación en la muestra de agua que responde a la siguiente expresión matemática:

$$\text{Factor respuesta (FR)} = \frac{\text{Área}}{\text{Concentración}}$$

sabiendo que la disolución patrón que se utiliza en esta determinación era de 20 $\mu\text{g/L}$.

Entonces, se construye otra tabla (será más fácil para seguir un orden y una mejor comprensión de los datos) con los factores respuesta obtenidos en la disolución patrón.

Ejemplo:

Benceno	4976,51
Tolueno	6532,87
Etilbenceno	5686,28
Xileno	7767,91
Estireno	7768,89
Naftaleno	11288,76

Tabla II- Anexo II

Entonces ahora ya, se procede a la cuantificación de las especies (analitos) identificadas en el espectro resultante de la muestra (cromatograma) mediante la fórmula del factor respuesta midiendo las áreas correspondientes a cada pico anotando su tiempo de retención:

(NOTA: es importante recordar que los tiempos de retención sirven, entre otros, para identificar cualitativamente al analito, porque más o menos siempre se encuentra en el mismo orden de escala de tiempo de elución)

Compuesto identificado	Tiempo retención (min)	Concentración (µg/L)
Benceno	1,199	11,91
Tolueno	2,466	463,09
Etilbenceno	5,222	104,71
Xileno	5,607	404,03
Estireno	6,700	206,05

Tabla III- Anexo II

ANOVA

El análisis de la varianza (ANOVA) se utiliza principalmente para estimar si hay evidencias de distinción entre medias poblacionales (grupos) además de compaginar otras herramientas estadísticas. La explicación de ANOVA puede ser complicada si está dirigida a una persona que nunca ha oído hablar de temas estadísticos. En el mediante Anexo se va a proceder de manera lo más esquemática y sencilla posible para hacer un estudio estadístico básico y de fácil entendimiento. Se conocen distintos tipos de ANOVA, siendo uno de los más sencillos y frecuentes el ANOVA de un factor que es el que principalmente interesa aquí, ya que el análisis estadístico que se va a considerar es el análisis de muestras distintas (poblaciones estadísticamente hablando) por lo menos geográficamente, analizadas por el mismo analista.

Se procede a explicar el caso concreto de este trabajo mencionado en el párrafo anterior: ANOVA de un factor. Como se observa en la figura 7-Anexo II, se observa el supuesto de cinco muestras tomadas en sitios geográficos distintos por lo que 'a priori' se pueden considerar diferentes. Para determinar si de verdad existen diferencias significativas entre ellas, se realiza este estudio estadístico, de lo contrario serán consideradas "iguales" o lo que viene a resultar, que no hay evidencias significativas de que sean distintas. Se calcula como se puede observar en la imagen, el promedio y la varianza, que en la plantilla de trabajo de Excel se calculan con los siguientes comandos '=PROMEDIO(:)' y '=VAR(:)' para las muestras con sus respectivas mediciones (réplicas), siendo '(:)' el conjunto de celdas de la plantilla Excel para analizar. Además, se calcula el promedio de las 5 varianzas obtenidas (a lo que llamamos varianza dentro de los grupos).

En la parte de la derecha de la figura 7-Anexo II, se calcula la media de los promedios (los 5 valores calculados antes), y la varianza de los promedios. Es importante tener siempre en cuenta los grados de libertad (gdl) ya que influyen directamente en el estudio estadístico. Se calcula ahora la varianza entre grupos de la siguiente manera: "varianza de los promedios x n" (en este caso sería $0,39375 \times 8 = 3,15$). Entonces se realiza el test F que va a decir si hay o no evidencias significativas. Se calcula F experimental (F_{exp}) con el cociente de la varianza entre grupos y la varianza dentro de los grupos (en este caso $3,15 / 0,582142857 = 5,411042945$). F crítico (F_{crit}) es un valor tabulado que la hoja de Excel da si se introduce el siguiente comando '=DISTR.F.INV(0,05;gdl1;gdl2)'. El 0,05 hace referencia a la probabilidad (95% en este caso), y los otros a los grados de libertad correspondientes, en su caso gdl1= 4 y gdl2=35. Se obtiene F_{crit} que es igual a 2,6414 aproximadamente y se observa por tanto que, $F_{exp} > F_{crit}$ y por tanto, hay diferencias significativas y se puede afirmar que la localización geográfica afecta a las distintas concentraciones. Se rechaza por consiguiente la hipótesis nula (H_0) y se dice que la concentración de analito en este caso dependería de la muestra localizada en un punto geográfico. Este es un ejemplo (el de la figura 7-Anexo II) de que las medias son distintas, pero podría darse la situación contraria de que $F_{exp} < F_{crit}$ y por tanto se considerarían muestras indistintas.

Los datos de la figura 9-Anexo II en amarillo y en color carne, representan respectivamente al C_{exp} y al C_{crit} para hacer el test C de Cochran. Sencillamente vienen a indicar si son homogéneas o no las muestras. C_{crit} es un valor que está tabulado y que hay que buscar, pero, sin embargo, C_{exp} se calcula tomando la varianza mayor de todas las muestras y se divide entre la suma de todas las varianzas obtenidas para cada muestra. En el ejemplo propuesto, $C_{crit} > C_{exp}$ por lo que las muestras son homogéneas.

¿Qué sucede si las muestras no son homogéneas, $C_{crit} < C_{exp}$? Para realizar el análisis de ANOVA, tienen que ser homogéneas si no, no se puede seguir con el análisis de la varianza. Este es el primer paso que hay que determinar. Si al hacer la prueba C de Cochran resultan en que no son homogéneas, hay que transformar los datos hasta que salga que si son homogéneas. Una buena transformación es aplicar a los datos su raíz cuadrada. Una vez que salga que son homogéneas, se seguirá con el procedimiento descrito para ver si hay diferencias significativas o no, y si las hay, ver entre cuales mediante la LSD.

66	análisis de datos						
67							
68	Análisis de varianza de un factor						
69							
70	RESUMEN						
71	<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
72	Columna 1	8	10	1,25	0,5		
73	Columna 2	8	17	2,125	0,696428571	0,239263804	
74	Columna 3	8	20	2,5	0,571428571		
75	Columna 4	8	8	1	0,571428571	0,4564	
76	Columna 5	8	16	2	0,571428571		
77							
78							
79	ANÁLISIS DE VARIANZA						
80	<i>Origen de las variaciones</i>	<i>gl</i>	<i>MS (varianza)</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>F crit</i>	
81	Entre grupos	12,6	4	3,15	5,411042945	0,001685484	2,641465186
82	Dentro de los grupos	20,375	35	0,582142857			
83							
84	Total	32,975	39				

Figura 9-Anexo II